

**INTEGRATION
IN EINEM EINFACHEN NERVENSYSTEM**

**Untersuchungen am stomatogastrischen System
von *Cancer pagurus***

Anton Hermann

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553812_0033

INTEGRATION IN EINEM EINFACHEN NERVENSYSTEM

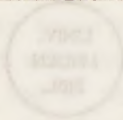
Untersuchungen am stomatogastrischen System von *Cancer pagurus*

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

des Fachbereichs Biologie

der Ludwig-Maximilians-Universität München



vorgelegt von

ANTON HERMANN aus München

München 1976



1. Berichterstatter: Professor Dr. P. Bruckmoser
2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Zettler
Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1976

Die vorliegende Arbeit wurde in den Jahren 1972 bis 1975 in der Abteilung für Experimentelle Neurophysiologie am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. H.D. Lux für die Betreuung der Arbeit und seine großzügige Unterstützung, sowie den Herren Dr. H. Meyer und G. Hofmeier für ihre Beratung in experimentellen Techniken. Bei Prof. A. Selverston, Dr.M.R. Dando, Dr. C. Heyer und R. Deisz möchte ich mich für anregende Diskussionen bedanken.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch meiner Frau für ihr Verständnis während des Entstehens der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. Autrum, Herrn Prof. Dr. P. Bruckmoser und Herrn Prof. Dr. F. Zettler danke ich für ihr Interesse an der Arbeit.

In Dankbarkeit meinen Eltern sowie meiner Frau Marianna gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

A., ZUSAMMENFASSUNG

B., EINLEITUNG

C., MATERIAL UND METHODEN

Das isolierte System. Elektronik

Das in situ Präparat. Elektronik

Intra- und extrazelluläre Elektroden

D., BESCHREIBUNG DES UNTERSUCHTEN SYSTEMS

Anatomische Vorbemerkungen

Das stomatogastrische Ganglion (StG)

Synaptische Überträgersubstanzen im StG

E., ERGEBNISSE

I., NEURONENEIGENSCHAFTEN UND SYNAPTISCHE INTERAKTIONEN DER PD, LP, UND PY-NEURONE

Das pylorische Entladungsmuster

Eingangsorganisation des StG

Neuroneneigenschaften: Rhythmogenese der pylorischen
Entladung

Die PD-Schrittmachneurone

Die Folgeneurone LP und PY

Neuronenparameter

Der extraganglionäre exzitatorische Eingang

Verhalten der EPSP's bei Somahyperpolarisation

Zum Mechanismus der Inhibition

Synaptische Interaktionen im Ganglion

II., MODIFIKATION DES PYLORISCHEN ENTLADUNGSMUSTERS DURCH DEN EINGANG VON KOMMANDOFASERN

Extrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat
während Reflexaktivität

Intrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat

Ableitungen vom isolierten Präparat

Isolation von Eingangsfasern auf die PD-Schrittmacherneurone

Graduierung zu verschiedenen pylorischen Ausgangsmustern am isolierten Präparat

Relevanz der evozierten Ausgangsmodifikationen

III., COMPUTER-SIMULATION DES PYLORISCHEN ENTLADUNGSMUSTERS

Modellparameter

Simulation

F., DISKUSSION UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Rhythmogenese

Elektrotonische Synapsen

Die Eigenschaften der StG-Neurone

Der synaptische Eingang

Die Entladungsfolge der LP-PY-Neurone

Der Entladungsmodus der Folge Neurone LP und PY

Die Modifikation des pylorischen Entladungsmusters

Zur Funktion des spontanen pylorischen Entladungsmusters

Interpretation des Reflexablaufs

Zur Computer-Simulation

Relevanz von Untersuchungen an niederen Tieren

G., Tabellen
Abkürzungen

II., LITERATURVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG

Das stomatogastrische Ganglion (StG) der höheren dekapoden Crustaceen gehört zu den sog. "einfachen" neuralen Systemen. Es besteht aus etwa 30 Neuronen, durch die sämtliche Magenbewegungen gesteuert werden. Diese Neurone lassen sich in zwei funktionelle Gruppen unterteilen, die je ein komplexes Entladungsmuster hervorbringen: den pylorischen und den gastrischen Zyklus. Die genauen Mechanismen, wie diese Muster generiert oder auch moduliert werden, sind bisher nicht bekannt. Eine nähere Untersuchung dieser Fragen wurde am pylorischen Entladungsmuster bei der Krabbe, *Cancer pagurus* durchgeführt. Es setzt sich im wesentlichen aus drei sequentiellen Entladungsabschnitten der "PD-, LP- und PY-Neurone" zusammen. Die Eigenschaften, sowie die synaptischen Interaktionen dieser Neurone wurden durch intrazelluläre Ableitungen näher analysiert. Die Ergebnisse zeigen, daß die Rhythmizität der pylorischen Entladung von einer endogenen Aktivität der PD-Neurone ausgeht. Befunde, daß an der Einstellung des Membranpotentials bei den Schrittmachern eine elektrogene Pumpe beteiligt ist, lassen vermuten, daß die Entladungsaktivität dieser Neurone über einen solchen Mechanismus gesteuert wird.

Bei Stimulation an den Eingangsnerven zum StG zeigte sich, daß die untersuchten Neurone alle ausschließlich exzitatorischen Eingang erhalten. Die synaptischen Interaktionen im Ganglion hingegen sind inhibitorischer oder elektrotonischer Natur; ihre funktionelle Signifikanz wurde ausführlich behandelt. Eine wesentliche Bedeutung bei der Musterbildung wurde vor allem in den elektrotonischen Verknüpfungen erkannt.

Das pylorische Entladungsmuster kann über ein sensorisches System qualitativ verändert werden. Nach einer Hypothese von Dando et al. (1974) wird dieses sog. "psn-Reflexmuster" aus-

gelöst durch einen spezifischen Eingang von Kommandofasern, die allein auf die Schrittmacher des Systems konvergieren. Mit einer Technik, die intrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat möglich machte, konnte gezeigt werden, daß die PD-Neurone während der Reflexaktivität tatsächlich exzitatorischen Eingang erhalten. Der postulierte Reflexmechanismus lies sich weiter unterstützen durch Experimente am isolierten Nervensystem, wobei nach einer Stimulation von separierten Kommandofasern oder durch Simulation des exzitatorischen synaptischen Eingangs auf die Schrittmacher mit einer depolarisierenden Strominjektion, ein "psn-Reflex"-ähnliches Entladungsmuster auszulösen war.

Eine funktionelle Relevanz des spontanen pylorischen Entladungsmusters, sowie des "psn-Reflexmusters" wird auf Grund der neuronalen Aktivitäten und der Morphologie diskutiert.

Mit vorwiegend experimentell erhaltenen Daten über Eigenschaften und Verschaltung der pylorischen Neurone konnte das pylorische Entladungsmuster schließlich in einem Computermodell simuliert werden.

EINLEITUNG

Bei dem Bemühen, die integrativen Mechanismen zu verstehen, die sich in einem neuronalen System abspielen, ist es notwendig, sowohl die Eigenschaften der beteiligten Neurone als auch deren Interaktionen zu studieren. An höheren Nervensystemen ist eine solche Untersuchung häufig schwer durchzuführen, was vor allem darin begründet ist, daß die Zahl der Bausteine - der Neurone - sehr groß ist. Einer Gesamtanalyse auf der Ebene einzelner Neurone sind komplexere neurale Systeme nicht zugänglich, und bei einer Untersuchung von Teilen ergibt sich das Problem, daß dabei ihre Integrität zerstört wird, die auch bei einer anschließenden Synthese nicht wieder zu gewinnen ist.

Ein Ansatz um die Prinzipien neuronaler Integration zu studieren, geht daher von sogenannten "einfachen Nervensystemen" aus (Maynard, 1965; Kennedy et al., 1969; Maynard, 1972; s. Usherwood, und Newth, 1973), wobei man hofft Funktionsprinzipien aufzufinden, um sie dann an anderen, "höheren" Nervensystemen leichter erkennen zu können. Als "einfach" gilt im allgemeinen ein neuronales System dann, wenn entweder die Art der Verschaltung gleichartig oder begrenzt ist, und sich so auch ein komplexeres System auf einige wenige Grundeinheiten ähnlicher neuraler Organisation reduziert, oder wenn die Anzahl der beteiligten Neurone so klein ist, daß mit den zur Verfügung stehenden technischen Mitteln eine Gesamtanalyse möglich wird (Maynard, 1972).

Einfache neurale Systeme mit einer begrenzten Anzahl von Nervenzellen findet man bei einigen peripheren Invertebraten-Ganglien, wie z.B. dem Herzganglion (Alexandrowicz, 1932) oder dem stomatogastrischen Ganglion (Orlov, 1927) der Crustaceen. Solche Integrationseinheiten werden in der Literatur auch häufig als "Miniaturn-ZNS" bezeichnet. Sie unterscheiden sich jedoch auch vom einfachsten ZNS durch ihr sehr begrenztes und stereotypes Repertoire funktioneller Aktivitätsmuster. Andererseits sind es aber gerade diese Eigenschaften, die an solchen Systemen eine umfassende Analyse der Integrationsabläufe überhaupt erst möglich machen.

Der integrative Hintergrund eines "motorischen Ausgangsmusters" ist entweder zentralen Interneuronen zuzuordnen (z.B. Huber, 1962; Horridge, 1968; Willows, 1973) oder ist in anderen Fällen auch erst auf der motoneuronalen Ebene selbst zu finden (z.B. Mulloney, 1969; Hoyle und Burrows, 1973). Zur Entstehung der Muster ist ein spezifischer sensorischer Eingang meist nicht notwendig. Afferente Rückkopplung (feedback) von Rezeptoren spielt meist nur für eine Anpassung der Verhaltensweisen an unmittelbare Umgebungseinflüsse eine Rolle (Zusammenfassung s. Delong, 1971). Einer der ersten, überzeugenden Nachweise einer solchen Integrationseinheit (oder "pattern generator") gelang Wilson (1961) für die Flugsteuerung bei Heuschrecken. Er konnte zeigen, daß das motoneuronale Ausgangsmuster für die Flugaktivität mit all seinen Phasenbeziehungen auch dann normal blieb, wenn sämtlicher sensorischer Eingang ausgeschaltet worden war und nur das Bauchmark mit unregelmäßigen elektrischen Reizen stimuliert wurde. Seither konnte für eine Vielzahl weiterer einfacher Verhaltensweisen (wie z.B. Laufen, Schwimmen, Stridulation, etc.) bei verschiedenen Tierarten gezeigt werden, daß spezifische Integrationseinheiten zugrunde liegen (Pearson, 1972; Bentley, 1969b; Huber, 1967).

Eine allgemeine Eigenschaft dieser "pattern generators" ist häufig eine rhythmische Ausgangsaktivität. Zwei wichtige Prinzipien, die man zur Genese neuraler Rhythmizität annimmt sind 1) die Rhythmizität geht von endogenen Schrittmacherneuronen aus (Hagiwara, 1961; Watanabe et al., 1967; Mendelson, 1971; Wilkens et al., 1974), oder 2) sie geht aus der Verschaltung selbst nicht rhythmisch aktiver Neurone untereinander hervor (Wyman, 1966; Mulloney, 1970). Die koordinierenden Mechanismen, die sich auf Grund der Eigenschaften und Interaktionen der beteiligten neuronalen Elemente in einer solchen Integrationseinheit abspielen, sind bisher jedoch noch in keinem Fall vollständig verstanden.

Häufig nimmt man an, daß am An- oder Ausschalten, sowie an der Modulation der Aktivität neuronaler Subsysteme sog. "Kommandofasern" ("command fibres") beteiligt sind. Ursprünglich wurden

solche Steuerelemente von Wiersma an dekapoden Crustazeen beschrieben und seither sehr ausgiebig weiter untersucht (Zusammenfassung s. Kandel und Kupfermann, 1970, Bowerman und Larimer, 1976). Eine deutliche Diskrepanz besteht allerdings bislang zwischen sehr extensiven Beschreibungen und den relativ wenigen Untersuchungen zum Mechanismus der Arbeitsweise solcher Kommandofasern.

Ein geeignetes Präparat mit einer Vielzahl von Vorteilen für eine Untersuchung zur neuralen Integration ist das stomatogastrische Nervensystem der dekapoden Crustazeen. Einer der ersten Forscher, der dieses System für die Neurophysiologie entdeckte war D. Maynard (1965, 1966, 1967, 1969). Das stomatogastrische Ganglion, von dem aus die gesamte Magenmotorik gesteuert wird, enthält nur etwa 30 Neurone, die zwei verschiedene Entladungsmuster generieren: Der sogenannte pylorische Rhythmus ist normalerweise ein sehr regelmäßiges, rhythmisches, ziemlich schnell ablaufendes Entladungsmuster. Einige der beteiligten Neurone sollen endogene Entladungseigenschaften haben, während die Entladung der übrigen Neurone im Zyklus bestimmt ist durch ihre synaptischen Interaktionen (Maynard, 1972; Maynard und Selverston, 1973). Der gastrische Rhythmus hingegen ist langsamer und variabler als der pylorische Rhythmus. Sein rhythmisches Entladungsmuster wird nur durch die Verschaltung der beteiligten Neurone bestimmt (Mulloney und Selverston, 1974 a, b; Selverston und Mulloney, 1974). Innerhalb dieser beiden Neuronenpopulationen gibt es feste Verknüpfungen, jedoch vermutlich nur wenige zwischen den Teilkomplexen, deren Untersuchung daher ad seperatum möglich ist. Die Komplexität der Entladungsmuster ist einerseits hoch genug, um für eine Analyse interessant zu sein, andererseits ist die Zahl der beteiligten Neurone aber so begrenzt, daß eine detaillierte Untersuchung durchgeführt werden kann. Die ganglionären Neurone sind alle einer intrazellulären Ableitung zugänglich, wobei sich Spike-sowie synaptische Aktivität von den Zellsomata registrieren lassen.

Für eine Untersuchung des Eingangs auf ein motorisches System hat das Präparat den Vorteil, daß die gesamte Eingangs- und Ausgangs-

aktivität des Ganglions durch extrazelluläre Ableitung überwacht werden kann.

Die vorgelegte Arbeit beschäftigt sich im ersten Teil mit einer Untersuchung der Eigenschaften, Neuronenparameter und den synaptischen Interaktionen einer Gruppe von Neuronen, die am pylorischen Zyklus beteiligt sind. Im zweiten Teil der Arbeit wird der Mechanismus einer qualitativen Veränderung der pylorischen Entladung durch den Eingang von Kommandofasern näher untersucht. Im dritten Abschnitt wurde schließlich der Versuch durchgeführt, mit den aus intrazellulären Ableitungen erhaltenen Zelldaten und synaptischen Parametern die pylorische Ausgangsaktivität mit einem Computer zu simulieren.

MATERIAL UND METHODEN

Es wurden Untersuchungen am in situ Präparat und am isolierten stomatogastrischen System der Krabbe, *Cancer pagurus* durchgeführt. Die unterschiedlichen Präparations- und Ableitmethoden werden im folgenden getrennt dargestellt.

1) Das isolierte System

Die Experimente wurden am MPI für Psychiatrie, Abteilung Neurophysiologie in München durchgeführt. Die Versuchstiere wurden aus Schottland importiert und anschließend in einem Basin mit künstlichem Meerwasser (350 l) gehalten, das laufend über einen Aktivkohlefilter (Milena) und einen Proteinabscheider (Tunze, Aquariumtechnik) rezirkulierte. Die Wassertemperatur war konstant zwischen 13 und 15°C. Mit Seefisch gefüttert hielten sich die Krabben über mehrere Monate in sehr gutem Zustand. Die Präparation begann mit dem Entfernen der Extremitäten. Dann wurde der Carapax über der Magenregion geöffnet und der Magen möglichst schnell isoliert. Nach der Isolation wurde der Magen mit einer ventralen Längsschnitt geöffnet und gründlich mit Ringerlösung gespült, um kontaminierenden Einfluß des Mageninhalts auf das Nervensystem zu verhindern. Anschließend wurden die erforderlichen Teile des stomatogastrischen Nervensystems freipräpariert und in eine Experimentier-Petrischale transferiert. Der Boden der Schale war mit einer durchsichtigen elastischen Kunstharzschicht (Sylgard 184; Dow Corning Corp.) ausgegossen, und in diese eine kleinere Perfusionskammer eingelassen worden (Abb.1). Nach der Platzierung des isolierten Nervensystems in der Experimentierschale wurde das ganglionäre Epineurium mit feinen Pinzetten geöffnet. Anschließend konnte bei sorgfältiger Präparation ein normales Ausgangsmuster abgeleitet werden. Nach Abdichten der Perfusionskammer mit Vaseline betrug das Volumen 0,5 bis 1,0 ml. Mit dieser Anordnung (Abb.1) war es möglich, allein das Ganglion mit verschiedenen Austauschlösungen zu perfundieren, während die Nerven in Normalringerlösung blieben. Die Ringerbadtemperatur konnte mittels eines Kühlsystems auf $\pm 1^{\circ}\text{C}$ genau eingestellt werden. Zur Messung der Temperatur wurde

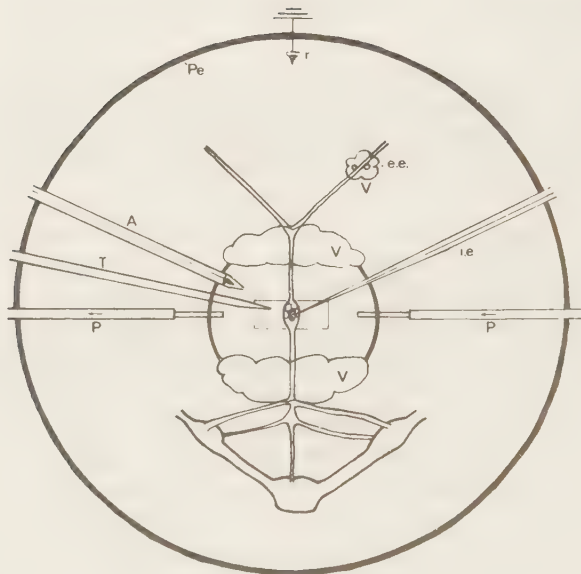


Abb.1 : Schema der experimentellen Anordnung für Ableitungen vom isolierten stomatogastrischen System. A Agar-Agar-Elektrode, e.e. extrazelluläre Elektrode, i.e. intrazelluläre Elektrode, P Perfusionssystem, Pe Petrieschale, r Badelektrode, T Temperaturfühler, V Vaselinisolation

ein Meßfühler (Thermistor) nahe am Ganglion lokalisiert (Abstand ca. 3 mm).

Bis zur intrazellulären Ableitung (mit extrazellulärer Registrierung) betrug die Präparationzeit etwa 3 bis 5 Std. Das isolierte Präparat überlebte ca. 15 bis 20 Std. in brauchbarem Zustand; von einzelnen Neuronen wurde maximal bis zu 18 Std. abgeleitet.

Die Isolation kleiner Faserbündel am superioren Oesophagusnerv (son) erfolgte mit angespitzten Wolframnadeln. Um an den etwa 60 μ dicken Nerv zu kommen, mußte Bindegewebe (etwa 100 μ stark) wegpräpariert werden.

Als günstigste Beleuchtung erwies sich sowohl das seitlich einfallende Licht einer Niedervoltlampe als auch eine Dunkelfeldbeleuchtung. Zur weiteren Auswertung wurden Magnetbandaufzeichnungen (Hewlett Packard, 3960) und/oder Filmaufnahmen (Grass Instruments) gemacht.

Die berichteten Ergebnisse wurden aus Experimenten an über 40 Krabben gewonnen.

Elektronik

Zur intrazellulären Ableitung sind Vorverstärkereinheiten mit folgender Ausstattung angefertigt worden: einem FET-Differentialverstärker (Verstärkung 10 und 100-fach, Eingangswiderstand 10^{11} Ohm); einer Testschaltung zur Messung des Elektrodenwiderstands; einer Kapazitätsneutralisation; einem Potentiometer zum Abgleich von "tip-potentials" (mit dazugehöriger Anzeigeinstrument) und eine Testschaltung zu Applikation von Spannungspulsen (Frank und Fuortes, 1961).

Größere Membranpotentialänderungen (bis etwa 10 sec) konnten durch Spannungseinprägungen über einen modifizierten Tönnies-Puls-generator mit zusätzlich eingebauten Kondensator hervorgerufen werden. Als weitere Methode zur Bestimmung der Strom-Spannungskurven wurde ein Sägezahnstrom (Wavetek, Modell 112) über einen Nachverstärker (Tektronix 122, Typ A), eine Brückenschaltung und die Ableitelektrode der Zellmembran aufgebracht, sowie zur Strommessung auf den Oszilloskopen gemessen, und zum anlassen die horizontalen Ablenkplatten des Oszillographen angesteuert.

Membranpotentiale wurden differentiell zwischen einer intrazellulären Mikroelektrode und einer Referenzelektrode im extrazellulären Bad gemessen. Die Stabilität dieser Anordnung ist mit beiden Elektroden extrazellulär von Zeit zu Zeit getestet worden. Blieben die Potentialschwankungen (gemessen 1 Std.) innerhalb 1 mV Abweichung, wurde das System als ausreichend stabil erachtet.

Die Verstärkereinheit wurde nahe am Ableitort angebracht, um durch kurze Kabelverbindungen (>10 cm) Eingangskapazitäten zu reduzieren.

Extrazelluläre Ableitungen wurden mit Tektronix 122 Vorverstärkern durchgeführt, extrazelluläre Stimulation mit einem Tönnies-Reizgerät, Typ D. Dünne, nicht abgeschirmte Kabel bildeten die Ver-

bindung zur Ableit- oder Reizelektronik. Während der Experimente konnte an denselben Elektroden von Ableitung auf Reizung umgeschaltet werden.

2) Das in situ Präparat

Die Versuche am in situ Präparat wurden am Gatty Marine Laboratory, St. Andrews (Schottland) durchgeführt. Für die Experimente wurden große Krabben (Carapaxdurchmesser über 15 cm) ausgewählt. Die Tiere stammten aus Fängen in der Umgebung von St. Andrews und wurden bis zum Versuch in großen, ständig mit Meerwasser durchfluteten Behältern gehalten.

Die Präparation begann damit, durch entsprechende Einschnitte zwischen Basis und Ischium die Tiere zu veranlassen, sämtliche Peraeopoden zu autotomisieren. Stärkerer Blutverlust konnte damit vermieden werden, wodurch die Tiere länger in gutem Zustand blieben. Über der Magenregion wurde sodann ein 4-5 cm² großes Stück aus dem Carapax gefräst, ein Vaselineball um die so entstandene Öffnung errichtet und dieser "pool" mit Krabben-Ringer (440 mM NaCl; 23,3 mM Na₂SO₄; 11,4 mM KCl; 13,2 mM CaCl₂·2H₂O; 26,3 mM MgCl₂·6H₂O; PH: 7,4-7,6; Pantin, 1961) gefüllt. In einem mit Meerwasser gefüllten Experimentierbecken wurden die Tiere anschließend so platziert und fixiert, daß sie normal ventilieren konnten, ohne daß Meerwasser die dorsale Öffnung im Carapax überflutete (vgl. Dando et al, 1974). Die Wassertemperatur wurde entsprechend der Temperatur im Aufbewahrungsaquarium zwischen 13 und 15°C gehalten. Eine Wasserzirkulation im Experimentierbehälter war nicht notwendig, da die Tiere auch ohne diese Maßnahme während der Versuchszeit in gutem Zustand blieben, was aus ihrer relativ normalen Ventilationsaktivität herging.

Als nächstes wurde die Hypodermis entfernt und dann das stomatogastrische Ganglion zusammen mit den für das Experiment wichtigsten Nerven freipräpariert. Die dabei erforderliche Ligatur der Aorta anterior hatte weder merklichen Einfluß auf die Ventilation noch auf die neurale Aktivität. Um Bewegungen weitgehend zu eliminieren wurde das Ganglion auf einer kleinen Plattform (1x2 mm), die mit geschwärztem Wachs beschichtet war, festgesteckt (Experimentelle Anordnung s. Abb.2).

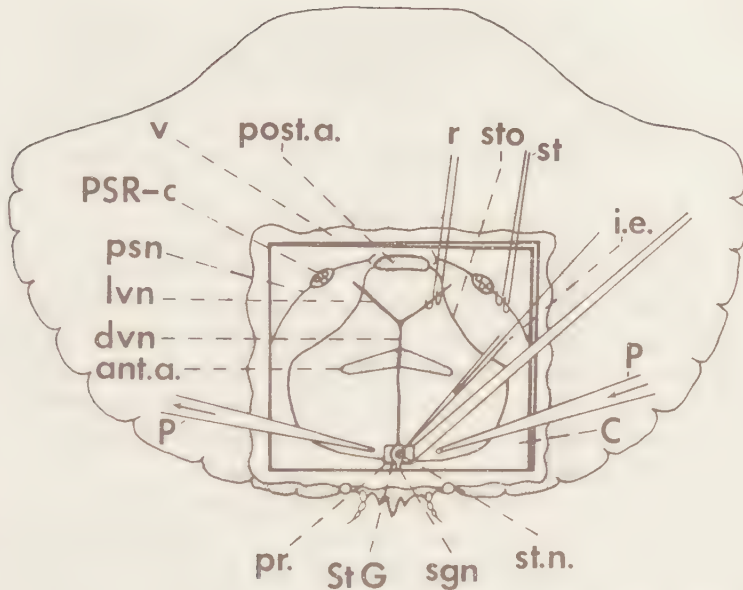


Abb. 2: Vereinfachte Darstellung der experimentellen Anordnung bei intrazellulären in situ Ableitungen. Die Krabbe ist in dorsaler Aufsicht dargestellt. Nur relevante Nerven sind illustriert und Muskulatur ist wegen der Übersicht weggelassen worden. Der "Experimentierpool" ist vor Seewasserhecken (nicht dargestellt) durch einen Vaseline-Wall (v), der die dorsale Carapaxöffnung (c) umgibt isoliert. Mit dem Perfusionssystem (P) läßt sich Ringerlösung austauschen, die Pfeile deuten die Richtung der Strömung an. Der anteriore (ant.a.) und posteriore (post.a.) Bogen der gastrischen Mühle sind leicht zu finden und helfen zur Orientierung. Das stomatogastrische Ganglion (StG) ist auf einer kleinen Plattform (pr.) festgesteckt. dvn, dorsaler ventrikulärer Nerv, lvn, lateraler ventrikulärer Nerv, sgn, stomatogastrischer Nerv, psn, posteriorer Magennerv, PSR-c, posteriore Magenrezeptoren, st.n, stomatogastrisches Neuron, r, extrazelluläre Ableitelektrode, st, extrazelluläre Stimulationslektrode, i.e., intrazelluläre Elektrode, sto, Magen.

Während der Präparation und der Penetration von Nervenzellen sorgte ein Perfusionssystem dafür, daß störende Blutakkumulationen vermieden wurden. Die Zellen sind teils bei intakter, teils bei entfernter ganglionärer Bindegewebshülle penetriert worden. Obwohl bei intaktem Epineurium die Penetration der Nervenzellen erschwert war,

stabilisierte das Bindegewebe die Elektroden offensichtlich so, daß die Zellen durch Magenbewegungen weniger beschädigt werden konnten. Mit dieser Methode waren intrazelluläre Ableitungen über Stunden (max. 4 Std.) möglich.

Experimente am in situ Präparat wurden an 15 Krabben durchgeführt.

Elektronik

Bipolare Platindraht-Häkchenelektroden wurden für extrazelluläre Ableitung und Stimulation an den entsprechenden Nerven plziert (Abb.2) und mit einer Mischung aus Vaseline und Paraffinöl isoliert. Die extrazellulären Potentiale wurden mit konventionellen AC-Verstärkern und intrazellulären Potentiale über einen Vorverstärker mit hohem Eingangswiderstand (10^{10} Ohm) abgeleitet und mit einem Zweistrahloszillographen (Tektronix 565) registriert.

Stimuliert wurde mit 0,1 msec Rechteckpulsen unterschiedlicher Amplitude und Frequenz mittels eines Tektronix 160 Reizgerätes über Isoliereinheiten. Von allen Experimenten wurden Filmaufzeichnungen mit einer Nihon Kohen PC-18-Kamera gemacht.

Intra- und extrazelluläre Elektroden

Zur intrazellulären Ableitung wurden Trennwandkapillaren (sogenannte Theta (Θ)-Elektroden) aus Pyrexglas von 0,5 - 1,0 μ Spitzendurchmesser verwendet, die mit 3 M KCl-Lösung oder mit einem Gemisch von gesättigter (0,6 M) K_2SO_4 und 1,5 M KCl-Lösung (10:1) gefüllt worden waren. Die Trennwandkapillaren haben den Vorteil, daß sie sich schnell füllen (innerhalb weniger Minuten) und so unmittelbar zur Verfügung stehen, sehr stabile Spitzen haben und je ein Kanal mit Injektionslösung zu elektrophoretischer Applikation gefüllt werden kann. Es wurden nur Elektroden verwendet, deren Widerstände zwischen 5 und 20 M Ω lagen und deren Gleichrichtung vernachlässigbar war. Zwei kurzgeschlossene chlorierte Silberdrähte in jedem Barrel stellten die Verbindung zwischen Elektrode und Vorverstärker her.

Als Referenzelektroden wurden chlorierte Silberdrahtelektroden mit einem größeren Durchmesser benutzt. Bei Perfusion des Ganglions mit Ringerlösungen unterschiedlicher Elektrolytzusammensetzung war eine Agar-Ringer-Brücke zwischengeschaltet (Neher, 1974).

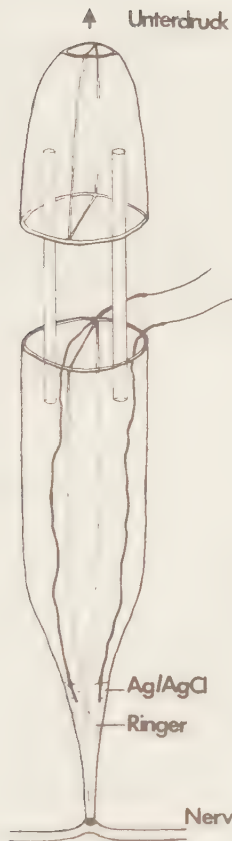


Abb. 3: Saugelektrode für extrazelluläre Ableitung und Stimulation

Zur extrazellulären Ableitung wurden Platindraht-Elektroden ($\emptyset$ 0,25 mm, 1 cm lng.) paarweise an den entsprechenden Nerven in das Kunstharz gesteckt und mit der Vaseline-Paraffinölmischung isoliert (Abb.1). Wenn es nicht möglich war, Platindraht-Elektroden anzubringen, wurden Saugelektroden folgender Bauweise benutzt (Abb.3): Mikropipetten aus Thetapipetten wurden an einer Mikro-

forge (de Fonbrune) auf den gewünschten Öffnungsdurchmesser (10 - 200 μ) gebrochen und die Bruchkanten rundgeschmolzen. In jedem Schenkel des Thetaqlasrohrs wurde eine dünne Glas- kapillare und darüber ein weiteres, kurzes, konisch auslaufendes Stück Thetaqlas geschoben. Seitwärts zwischen den beiden Elektroden- teilen herausgeführte chlorierte Silberdrähte stellen die Ver- bindung zur Elektronik her. Die beiden Elektrodenteile konnten nun durch Wachs miteinander verbunden werden. Mittels einer In- jektionsspritze wurde ein Unterdruck an der Elektrodenspitze er- zeugt und damit das Nervengewebe angesaugt.

BESCHREIBUNG DES UNTERSUCHTEN SYSTEMS

Anatomische Vorbemerkungen

Das Magensystem der dekapoden Crustazeen lässt sich im wesentlichen in zwei morphologisch und funktionell verschiedene Abschnitte gliedern: die sogenannte Kardia und den Pylorus. Die durch den Oesophagus eingebrachte Nahrung gelangt zuerst in die Kardia, dort wird sie in der "gastrischen Mühle", die sich etwa aus 30 chitinösen Skelettspangen und Magenähnen zusammensetzt, weiter zerkleinert und mit Verdauungsenzymen aus der Mitteldarmdrüse durchknetet. Zwischen Kardia und Pylorus befindet sich die Kardiopylorikalklappe, die den Cymuseinstrom in den Pylorus regelt. Im pylorischen Filter werden die feinen Nahrungspartikel durch ein Falten- und Reusensystem zur Endverdauung in die Heratopankreas, die groben Nahrungsteile dagegen in den Enddarm sortiert.

Das stomatogastrische Nervensystem:

In Abb. 4 ist eine Seitenansicht des Krabbenmagens mit Teilen des zentralen Nervensystems von dem das stomatogastrische Nervensystem entspringt dargestellt. Abb. 5 zeigt ein Schema des isolierten Nervensystems. Das stomatogastrische Nervensystem der dekapoden Crustaceen entspringt den paarigen Kommissurganglien (CG) und dem Supra-Oesophagus Ganglion (SOG). Jedes der beiden Kommissurganglien enthält mehrere hundert Nervenzellen und gilt als zentrale Koordinationsstelle der Magensinnesorgane (Orlov, 1926 a, b; Dando und Laverack, 1969). Mehrere Nerven gehen von hier ab, darunter die stomatogastrischen Nerven, die superioren (son) und inferioren (ion) Oesophagus Nerven. Die Nerven jeder Seite vereinigen sich mit einem unpaaren Nerven vom SOG dem inferioren-ventrikular-Nerv (ivn). Nahe der Vereinigungsstelle der ion liegt das Oesophagus-Ganglion (OG) mit seinen etwa 10 Nervenzellen (Spirito, 1975). Von hier aus zieht ein einziger unpaarer Nerv weiter, der stomatogastrische Nerv, (sgn), der dorsal in dem hier näher behandelten stomatogastrischen Ganglion (StG) mündet. Ein unpaarer, dorsaler ventrikular Nerv (dvn) verlässt das StG wieder und zieht kaudal in Richtung Pylorus. In der Nähe des Ganglion entspringen von dvn die medianen ventrikular Nerven (mvn). Bei der Krabbe *Cancer pagurus* geht hier auch noch ein zusätzlicher kleiner

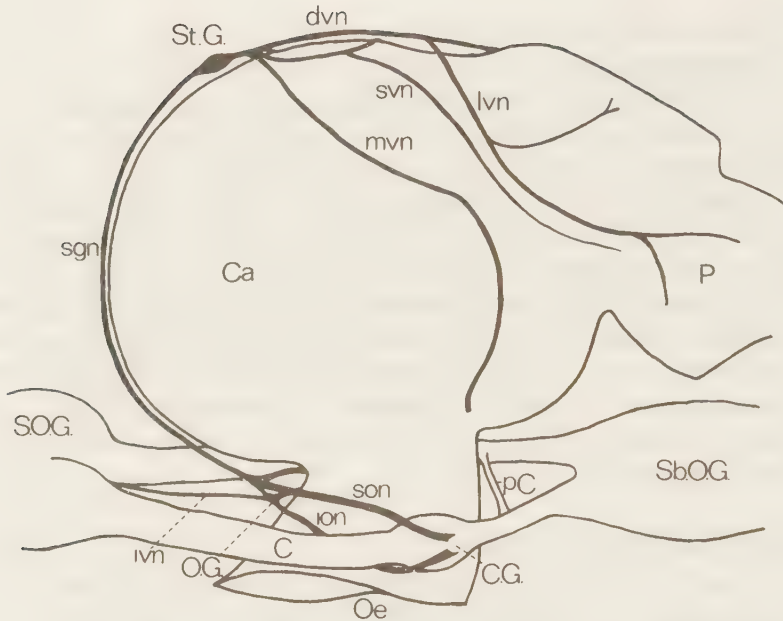


Abb. 4: Schema einer Seitenansicht des Krabbenmagens mit dem stomatogastrischen Nervensystem und dessen Ursprung vom ZNS. C Commissur, Ca Cardia, CG Commissur-Ganglion, dvn dorsaler ventrikular Nerv, ion inferiorer Oesophagus-Nerv, ivn inferiorer ventrikular Nerv, lvn lateraler ventrikular Nerv, mvn medianer ventrikular Nerv, P Pylorus, pC posteriore Commissur, SbOG Suboesophagus Ganglion, sgn stomatogastrischer Nerv, SOG Supraoesophagus Ganglion, son superiorer Oesophagus Nerv, StG stomatogastrisches Ganglion, svn kleiner ventrikular Nerv.

ventrikular Nerv (svn) ab (dieser Nerv fehlt den Macruren). Nahe dem posterioren Bogen der gastrischen Mühle, der von den Skelettelementen des Pylorikums und des Exopylorikums gebildet wird, teilt sich der dvn in zwei laterale ventrikular Nerven (lvn). Die weitere Aufspaltung der Nerven läßt sich bis zu einzelnen Axonen verfolgen (Maynard und Walton, 1974) und führt schließlich zu einem charakteristischem Innervationsmuster der quergestreiften Magenmuskulatur (Einzelinnervation bei gastrischen Muskeln, multiple Innervation bei pylorischen Muskeln, Govind et al, 1975). Sie verbindet entweder

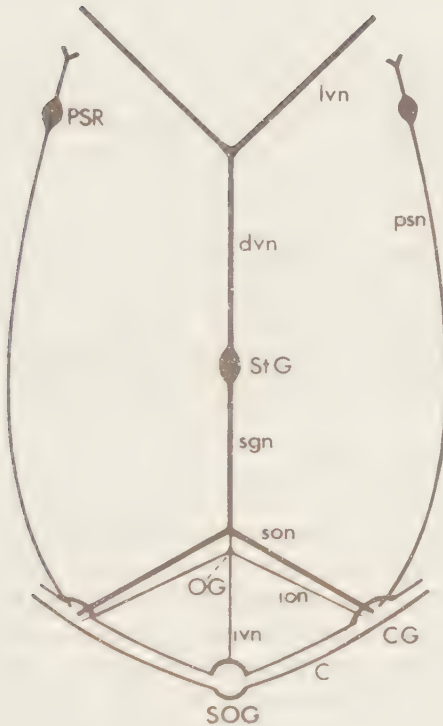


Abb. 5: Diagrammatische Darstellung des stomatogastrischen Nervensystems mit seinen Verbindungen zum ZNS. Bezeichnung der Nerven und Ganglion s. Abb. 4. Zusätzlich ist hier auch das propriozeptive Eingangssystem von der gastrischen Mühle illustriert. PSR posteriorer Magenrezeptor, psn posteriorer Magennerv.

Skelettelemente untereinander (intrinsische Muskulatur) oder mit dem Carapax (extrinsische Muskulatur).

In der Nähe des posterioren Bogens der Magenmühle setzen an der Magenoberfläche außen die posterioren Magenrezeptoren (PSR) an (s. Abb.5). Die ableitenden posterioren Magennerven (psn) ziehen

auf beiden Seiten des Magens zu den Kommissur-Ganglien (Dando und Laverack, 1969).

Es soll hier noch angemerkt werden, daß keine Homologie des Crustazeenmagens zum Vertebratenmagen besteht, ebenso ist das Magennervensystem nicht mit dem sympathischen Nervensystem der Vertebraten zu homologisieren. Das stomatogastrische Nervensystem ist ein motorisches und kein autonomes Nervensystem (Selverston, 1974).

Eine Zusammenfassung der meist unvollständigen älteren Literatur, sowie eine Standardisierung der Nomenklatur der Sklero-Myo- und Neuroanatomie des Magensystems verschiedener dekapoder Crustazeenarten wurde kürzlich von Maynard und Dando (1974) gegeben. Eine neuere Arbeit zur funktionellen Morphologie stammt von Schaefer (1970).

Das stomatogastrische Ganglion (StG)

Das StG der decapoden Crustaceen liegt nahe der antero-dorsalen Region des kardiakalen Magens in einer Erweiterung der dorsalen Aorta (cor frontale). Zwischen den paarigen anterioren gastrischen Muskeln lokalisiert, ist es etwa 1 mm lang und 300 μ breit. Die etwa 30 Zellsomata des Ganglions sind in einer einzigen dorsalen Schicht (mono layer) im posterioren Bereich angeordnet. Die Durchmesser der Somata variieren innerhalb des Ganglions und von Tier zu Tier, sie liegen zwischen 20 und 100 μ . Im StG von *Parulirus argus* (Maynard, 1972) sind 26 Neuronen aufgrund ihres Entladungsmusters, ihrer synaptischen Verschaltung und ihrer Innervation identifiziert. Bei der Mehrzahl der Zellen handelt es sich um monopolare motorische Einheiten, die kollaterale in das Neuropil senden, wo sie sich stark verzweigen und untereinander Synapsen bilden. Eine dieser Verzweigungen bildet schließlich das Axon und verläßt das Ganglion caudal; die Somata sind frei von Dendriten. Einige Zellen sind möglicherweise sensorisch (eine oder zwei bipolare und eine multipolare (Orlov, 1929; Larimer und Kennedy, 1966). Drei Nervenzellen sind als Interneurone identifiziert, zwei davon sind im gastrischen Zyklus involviert (Selverston und Mulloney, 1974), und eines im pylorischen Zyklus (Selverston, persönliche Mittlmg.). Die Topologie eines Neurons im

Ganglion kann sich von einem zum anderen Tier ändern.

Eine Beschreibung der Feinanatomie einiger stomatogastrischer Neurone wurde von Selverston (1973) mit der Procion-Yellow-Injektionstechnik gegeben. So konnte für die untersuchten Neurone eine fixierte Grundstruktur festgestellt werden, verschiedene Neurone sind aber in ihrer Feinstruktur nicht zur Deckung zu bringen. Diese morphologischen Unterschiede haben daher, so wird von Selverston vermutet, entweder keinen signifikanten Effekt auf die integrativen Eigenschaften dieser Zellen, da diese auch bei verschiedenen Präparaten identisch sind, oder es treten physiologische Eigenschaften auf, die strukturelle Abweichungen kompensieren.

In einer quantitativen Analyse der neuronalen Struktur konnten Selverston und Mulloney schließlich mit einer Computermethode verschiedene Neurone aus Serienschnitten rekonstruieren.

Dabei fanden sie unter anderm eine starke Abweichung von der Rallschen Regel* (Rall, 1959) für stomatogastrische Neurone, mit einem Mittelwert von 1,67.

Eine detaillierte Studie der Ultrastruktur stomatogastrischer Neurone wurde von Edith Maynard (1971) am Hummer durchgeführt. Sie fand, daß die Somamembran der stomatogastrischen Neurone keine Invaginationen aufweist (im Gegensatz zu Molluskenneuronen, Mirolli und Gorman, 1973). In anderen Regionen, vor allem dort, wo das Axon die Zelle verläßt, bis zu einer Entfernung von 40 μ waren bei einigen Zellen aber Invaginationen festzustellen. Das Zytoplasma in diesem

* Rall hat gezeigt, daß sich die Eingangsimpedanz eines Dendritenbaumes einfach abschätzen läßt, für den Fall, daß sich alle dendritischen Verzweigungen zu einem äquivalenten Zylinder zusammenfassen lassen. Eine Voraussetzung dazu ist, daß das Verhältnis Zweigendriten (d_n) zu Ursprungsendriten (D) an jedem Verzweigungspunkt der Formel:

$$\frac{\sum d_n^{3/2}}{D^{3/2}} = 1$$

entspricht. d_n = Durchmesser der Zweigendriten, D = Durchmesser des Ursprungsendriten. Lux et al., 1970, haben mit exakten anatomischen Daten von Katzen-Motoneuronen gezeigt, daß diese Beziehung dort gut approximiert wird.

Bereich enthielt häufig ungewöhnlich große Mengen von Glycogen-Granulae. Größere Nervenfasern im Ganglion und in den Ein- und Ausgangsnerven besitzen individuelle Bindegewebshüllen. Kleinere Fasern sind dagegen oft von einer gemeinsamen Hülle umgeben oder sie fehlt überhaupt. Es wurden auch kleine Nervenfasern von E. Maynard im Neuropil gefunden, deren Protoplasmamembranen in direktem Kontakt stehen, ohne dazwischenliegendes Glimaterial. Eine andere Kategorie kleiner Nervenfasern im sgn enthält Granulae im Zytoplasma und könnte auf Grund dessen und ihrer Struktur nach neurosekretorisch sein.

Synaptische Überträgersubstanzen im StG

Bisherige Befunde über die chemische Natur der synaptischen Transmitter im stomatogastrischen Nervensystem werden im folgenden kurz zusammengefaßt. Von Maynard und Atwood (1969) wird berichtet, daß am *Panulirus argus* pylorische Muskeln durch Glutamat depolarisiert werden können und relativ insensitive auf Gamma-aminobuttersäure (GABA) sind. Glutamat wird dabei auch im StG als neuronaler Transmitter diskutiert. Marder (1974) hingegen konnte an *Panulirus interruptus*, Acetylcholin als neuromuskulären Transmitter identifizieren. Bogomoltz (1970) hat die Wirkung verschiedener Transmitter-Aspiranten (Acetylcholin, Noradrenalin, GABA, Glutaminsäure und Dopamin) auf die Ganglion-Neurone beim Flußkrebis untersucht. Er kam dabei zu dem Schluß, daß Acetylcholin ein exzitatorischer Transmitter sein könnte.

Im Perikaryon der Ganglion-Neurone des Hummers wurde von E. Maynard (1971) hingegen keine Cholinesterase festgestellt, was vermuten läßt, daß intrinsische Neurone nicht cholinerg sind. Das Ganglion-Neuropil zeigt jedoch eine sehr intensive Cholinesterasereaktion, was die Möglichkeit extrinsischer cholinergischer Synapsen anzeigt.

Osborn und Dando (1969) diskutierten auf Grund ihrer Untersuchungen Dopamin als Neurotransmitter im StG von *Homarus vulgaris*.

Bei eigenen Untersuchungen war aufgefallen, daß beim Ersatz der Na^+ -Ionen im Ringer durch Cholin die Zellen depolarisierten und schließlich sämtliche elektrische Aktivität im Ganglion aufhörte.

Dieser Effekt war nicht vollständig reversibel nach Normalringer-

Rücktausch. Die Zellen blieben etwas depolarisiert und hielten meist nicht mehr sehr lange. Ähnliche Beobachtungen wurden von Krastas und Veprintser, 1972, an Tritonia-Riesenneuronen gemacht. Sie schrieben diese Wirkung der chemischen Verwandtschaft des Cholins zum Acetylcholin zu. Mit diesem Befund an StG-Neuronen würde daher die Anschauung unterstützt, daß Acetylcholin als chemischer Transmitter im StG fungiert.

ERGEBNISSE

1) NEURONEIGENSCHAFTEN, NEURONENPARAMETER UND SYNAPTISCHE INTERAKTIONEN DER PD, LP UND PY - NEURONE

Das pylorische Entladungsmuster

Die Ausgangsaktivität der StG's besteht sowohl beim in situ, als auch beim isolierten Krabben-Präparat gewöhnlich aus regelmäßigen pylorischen Entladungszyklen. Der hier näher untersuchte Teil des pylorischen Entladungsmusters kann extrazellulär vom dvn oder lvn, den Ausgangsnerven des StG (Abb.6) abgeleitet werden. Die daran beteiligten neuronalen Einheiten lassen sich bei extrazellulärer Ableitung auf Grund ihrer Spikeamplituden und ihres zeitlichen Ablaufs im Zyklus klassifizieren und durch gleichzeitige intra- und extrazelluläre Ableitungen identifizieren (Abb.7). Nach der Nomenklatur von Maynard und Dando (1974) werden die einzelnen Neurone entsprechend der innervierten Muskulatur identifiziert:

Tabelle 1:

Anzahl	Nomenklatur	
2	m-PD (medium-sized)	-pylorische dilator Neurone
2	s-PD (small)	
1	LP laterales pylorisches Neuron	
8	PY pylorische Neurone	

Ein einzelner pylorischer Zyklus setzt sich aus drei aufeinanderfolgenden Entladungsabschnitten dieser Neurone zusammen (Abb.6):

1. Entladung der PD-Neurone für 100 - 200 msec

Darauf folgt eine Ruheperiode im Entladungszyklus von etwa ebensolcher Dauer.

2. Entladung des LP-Neurons von etwa 200 msec.

3. Schließlich Entladung der PY-Neurone, die meist aber nicht alle aktiv sind, bis zu einer erneuten Entladung der PD-Neurone.

Ein Zyklus von einer PD-Entladung bis zur nächsten dauert normalerweise etwa 1 - 2 Sekunden.

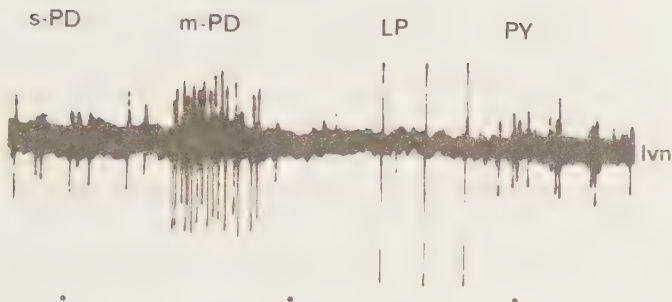


Abb. 6: Das pylorische Entladungsmuster bei Ableitung vom lateralen ventrikulär Nerv (lvn) des isolierten Präparats. s-PD und m-PD pylorische Dilatoren, LP laterale pylorische -PY pylorische Entladungseinheit. Zeitmarke 0,4 sec.

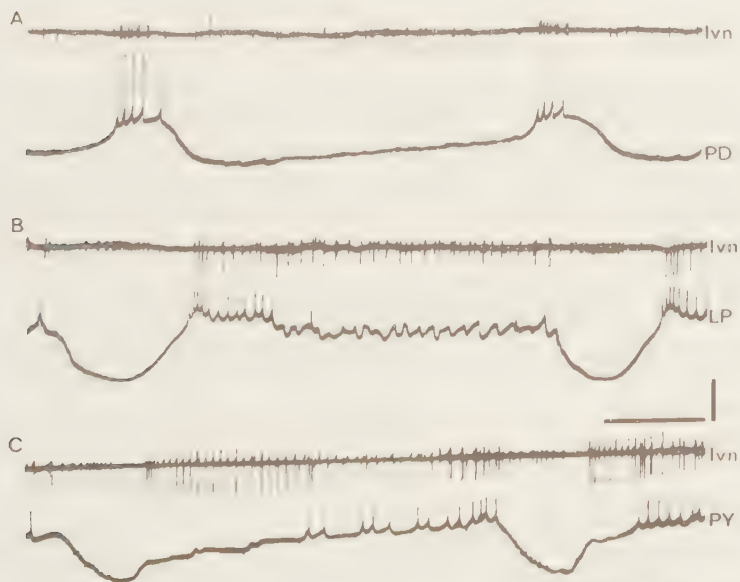


Abb. 7: Extrazelluläre (obere Spuren) und gleichzeitige intrazelluläre Ableitung (untere Spuren) von jeweils einem PD, LP und PY-Neuron Kalibrierung: 0,2 sec; 10 mV

Am gesamten pylorischen Entladungsmuster sind noch drei weitere Neurone beteiligt, die sich im wesentlichen parallel zu den beschriebenen Neuronen entladen. Eines davon, das AB (anteriöres Burster, extrazelluläre Ableitung im sgn) ist ein Interneuron (Selverston, persönl. Mitteilung.), das sich parallel zu den PD-Neuronen entlädt. Die restlichen zwei Neurone, die man extrazellulär vom myn ableiten kann sind weniger beständig in ihrer Entladungsaktivität. Das IC-(inferiores Cardia)-Neuron entlädt sich parallel zum LP-Neuron und das VD-(ventrikuläres Dilator)-Neuron ist meist nur zu Beginn der PD-Entladung aktiv (Dando et al., 1974; s. Hermann und Cunliffe, in Vorbereitung). Ob diese Neurone Entladungsaktivität zeigen oder nicht, scheint keinen Einfluß auf die übrigen Neurone im pylorischen Entladungszyklus zu haben. PD, LP und PY-Neurone gelten daher auch als die wesentlichen Elemente des pylorischen Entladungszyklus (Maynard, 1972). Die weitere Untersuchung beschränkt sich nur auf diese Gruppe von Neuronen.

Das beschriebene pylorische Entladungsmuster kann am isolierten Präparat auch bei völliger Deafferenzierung (etwa nach Durchtrennung des sgn nahe am Ganglion) über Stunden relativ konstant ablaufen. Läßt man am isolierten System die Kommissurganglien und das Oesophagusganglion intakt, treten auch geringe Modifikationen der pylorischen Ausgangsaktivität auf, wie z.B. eine plötzliche Beschleunigung oder Verlangsamung der pylorischen Rhythmizität über einige Zyklen. Am in situ Präparat lassen sich solche Veränderungen des pylorischen Musters öfters beobachten. Das pylorische Entladungsmuster bei der Krabbe wird also im StG generiert und benötigt keinen extraganglionären Eingang zur Rhythmogenese, kann jedoch durch Eingangsaktivität vom ZNS (CG und/oder SOG) modifiziert werden (vgl. Morris und Maynard, 1970).

Eingangsorganisation des StG

Die Untersuchungen wurden am isolierten Präparat durch elektrische Reizung an den verschiedenen Eingangsnerven zum StG, bei gleichzeitiger Ableitung der Ausgangsaktivität vom dvn durchgeführt.

Stimulation an den superioren und inferioren Oesophagusnerven

Stimulation am son beschleunigt zunehmend den pylorischen Zyklus bei Reizfrequenzen zwischen 2 und 40 Hz, wobei das Entladungsmuster erhalten bleibt. Über 40 Hz kommt es zu exzessiver Entladung im StG bei der keine Rhythmizität mehr festzustellen war. Stimulation am ion evoziert vorwiegend gastrische Entladungsaktivität des StG und zwar vor allem unmittelbar nach einer Veränderung der Stimulusfrequenz oder Stimulusintensität. Höhere Stimulusfrequenzen (bis zu 15 Hz) verursachten längere gastrische Entladungen. Bei Stimulusfrequenzen über 15 Hz trat jedoch auch pylorische Aktivität auf. Durch gleichzeitige Stimulation beider Nerven - son und ion - ließen sich beide Entladungsmuster abwechselnd auslösen. Eine Erhöhung der Stimulusintensität an einem der beiden Nerven ergab eine entsprechende Verschiebung der Entladungscharakteristik zu pylorischer oder gastrischer Antwort.

Stimulation am inferioren ventrikular Nerv:

Von den Axonen die im ivn verlaufen, ziehen einige vermutlich direkt zum StG (Dando und Selverston, 1972). Ableitungen vom sgn bei der Krabbe während einer Stimulation am ivn zeigten, daß zwei Axone vermutlich direkt zum StG laufen. Repetitive Stimulation am ivn (3-5 Hz) führte zu erhöhter pylorischer Entladungsaktivität (vgl. Dando und Selverston, 1972). Nach Durchtrennung des ivn waren trotz weiterer normaler pylorischer Entladungsaktivität keine extrazellulären Spikes mehr von diesem Nerven abzuleiten. Eine direkte Rückkopplung - StG - SON - ist daher nicht anzunehmen.

Stimulation am stomatogastrischen Nerv:

Der sgn bildet schließlich den einzigen Eingangsnerv zum StG, in dem alle Eingangsfasern von den CG's und vom SOG vereinigt sind. Bei elektrischer Stimulation am sgn kann vor allem die pylorische Entladungsaktivität beeinflusst werden, aber auch gastrische Aktivität läßt sich so evozieren.

Stimulation am lateralen ventrikular Nerv:

Durch elektrische Reizung am lvn (oder dvn) - den Haupt-Ausgangsnerven des StG - sollte eine mögliche sensorische Rückkopplung auf das StG untersucht werden. Es zeigte sich dabei keine signifikante Veränderung der ganglionären Ausgangsaktivität. Daher ist anzunehmen, daß die anatomisch festgestellten sensorischen Fasern, die im dvn zum StG laufen (Orlov, 1927) keinen direkten Reflexkreis über das StG bilden, sondern ohne synaptische Kontakte auszubilden durch das Ganglion zu den Zentren ziehen. Die völlige Unbeeinflußbarkeit des Entladungsmusters bei antidromer Stimulation ist, wie Mullonev und Selverston (1972) gezeigt haben, darauf zurückzuführen, daß antidrome Aktionspotentiale, obwohl sie vom Soma abzuleiten sind, keine synaptischen Potentiale im Ganglion auszulösen vermögen.

Neuroneneigenschaften

Rhythmogenese der pylorischen Entladung

Ein Charakteristikum der pylorischen Entladung ist ihr regelmäßiger, rhythmischer Ablauf. Als Ursache hierfür werden endogen aktive Schrittmacherneurone angenommen (Maynard, 1972; Maynard und Selverston, 1975).

Die folgenden Untersuchungen sollten weiter Hinweise auf den Ursprung der Rhythmizität im pylorischen Entladungsmuster bei der Krabbe liefern. Ein erster Anhaltspunkt dazu ergab sich bereits aus der Beobachtung, daß keine pylorische Rhythmizität abzuleiten war, wenn die PD-Neurone nicht aktiv waren. Durch lange hyperpolarisierende Strominjektion läßt sich die Entladungsaktivität der PD-Neurone auch experimentell verhindern, worauf eine rhythmische pylorische Entladung aufhört (s. Abb. 20B). Bei einer gleichen Behandlung der LP oder PY-Neurone bleibt die Entladung der PD-Neurone hingegen nahezu unbeeinträchtigt (s. z.B. Abb. 23A). Bringt man ein nicht spontan aktives PD-Neuron durch einen depolarisierenden Strompuls zur Entladung so kann ein vollständiger pylorischer Zyklus ausgelöst werden (Abb.8). Aufgrund dieser Ergebnisse kann man den PD-

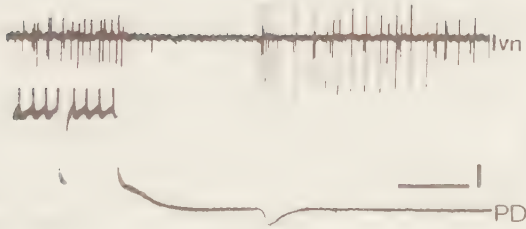


Abb. 3: Zur "Trigger-Funktion" der PD-Neurone. Pylorischer Zyklus (extrazelluläre Spur, oben), der durch Depolarisation eines nicht-spontanaktiven PD-Neurons ausgelöst wurde (Kalibrierung: 0,2 sec; 5 mV)

Neuronen eindeutig die Auslösefunktion für die pylorische Entladung zuschreiben. Es bleibt aber immer noch zu klären, ob es sich dabei um endogene Schrittmacheraktivität handelt oder ob Netzwerk-eigenschaften innerhalb dieser Gruppe für ihre Funktion verantwortlich sind. Erste Hinweise auf eine endogene Aktivität der PD-Zellen im StG von *Panulirus* stammen von Maynard (1972). Die genaue Natur der rhythmischen Entladung dieser Zellen war jedoch nicht geklärt worden. Maynard diskutiert neben einer endogenen Aktivität auch die Möglichkeit eines "positiven feedback's" über elektrotonische Kopplung der PD-Neurone zu anderen (PL, AL) Neuronen, wobei es über wechselseitige Erregung schließlich zu einer Burst-Entladung kommen sollte.

Eine elegante Methode, endogene Schrittmacheraktivität zu demonstrieren, wurde von Alving (1968) entwickelt. Sie isolierte durch eine Ligatur um das Axon einzelne Neuronensomata aus dem Viscerakganglion von *Aplysia*. Die Somata behielten dabei nach der Isolation ihr charakteristisches endogenes Burst-Entladungsmuster bei. Eine ähnliche Methode zur Demonstration autoaktiver Eigenschaften von StG Neuronen läßt sich jedoch nicht anwenden, da die Triggerzone der endogenen Aktivität distal vom Soma im Neuronil liegt. Nach dem Abtrennen des Somas durch eine Ligatur, kann vom Soma keine Aktivität mehr abgeleitet werden, während extrazellulär weiter Burst-Entladungsaktivität festzustellen ist, die demnach im Neuronil entstehen muß (Selverston, 1976,

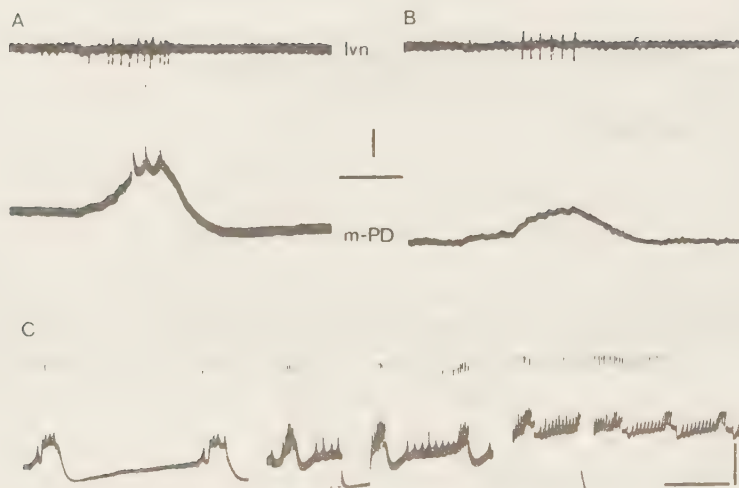


Abb. 9: Zur endogenen Entladungscharakteristik der PD-Neurone. A) Intrazelluläre Ableitung eines m-PD-Neurons (unten) mit gleichzeitiger extrazellulärer Ableitung (oben). B) Nach einer Hyperpolarisation des penetrierten PD-Neurons ist extrazellulär nur noch die Entladung eines PD-Neuron zu beobachten, dessen ekektrotonische Kopplung auf der intrazellulären Spur (unten) zu verfolgen ist. (Kalibrierung: 0,1 sec; 10 mV). C) Verhalten eines m-PD-Neurons bei depolarisierender Strominjektion (Zwischendurch wurde auf das Membranruhepotential zurückgeschaltet) (Kalibrierung: 0,5 sec; 10 mV)

pers. Mittlmg.). In einem komplexen Verband von Neuronen ist es schwierig, endogene Entladungsaktivität einzelner Neurone eindeutig zu zeigen, da interneuronale Wechselwirkungen kaum auszuschließen sind.

Um die endogene Natur der PD-Schrittmacherneurone zu belegen, wurden mehrere verschiedene Kriterien herangezogen, die zusammengenommen eine solche Entladungsaktivität doch sehr wahrscheinlich machen:

- 1) Für die Initiierung eines PD-Bursts kann extraganglionärer Eingang am völlig isolierten Präparat ausgeschlossen werden (s.S.24).
- 2) Um exzitatorischen intraganglionären Eingang, der über "elektrotonisch gekoppelte PD-Neurone" (s.S.43) wirksam werden könnte, auszuschließen, war über ein penetriertes PD-Neuron soweit hyperpolarisiert worden, daß alle "elektrotonisch gekoppelten Neurone" bis

auf ein PD-Neuron, das extrazellulär abzuleiten war, nicht mehr zur Entladung kamen (Abb. 9A,B). "Positiver feedback" als Entladungsursache kann daher für dieses Neuron ausgeschlossen werden.

3) Zwischen zwei Burstentladungen tritt eine charakteristische langsame Depolarisation des Membranpotentials auf (s. initialer Teil, Abb. 9C). Die Burstfrequenz kann durch Hyper- oder Depolarisation der Zellen verändert werden (vgl. Molluskenschrittmacher, Arvanitaki und Chalazonitis, 1967).

4) Besonders die recht unvermittelte und steile Termination einer PD-Entladung ließe eventuell auf einen synaptischen vermittelten Vorgang schließen. Tatsächlich gibt es auch eine negative Rückkopplung von der LP-Zelle auf die PD-Neurone (Abb. 7A). Aus dem pylorischen Entladungsmuster und den intrazellulären Ableitungen von PD-Neuronen läßt sich aber leicht erkennen, daß diese Hemmung erst nach Beendigung des PD-Bursts einsetzt und daher für seine Termination nicht in Frage kommt. Es bleibt die Möglichkeit, daß bisher noch nicht identifizierte Neurone für die Termination des PD-Bursts sorgen. Gegen diese Annahme spricht, daß sich bei Hyper- oder Depolarisation der PD-Zellen die Burstnachhyperpolarisation umgekehrt verhält wie ein inhibitorisches Potential: bei Depolarisation wird sie kleiner (s. Abb. 9C) und bei Hyperpolarisation größer. Andere Untersuchungen zeigten, daß bei Chloridreduktion im Ringermilieu die Hemmung stark vermindert wird, der Burstpotentialverlauf aber im wesentlichen unverändert bleibt (Mermann, unveröffentlicht). Die Termination des PD-Bursts kann daher keinem Cl^- -Ionen abhängigen Mechanismus zugeschrieben werden. Vielmehr ist für die Bursttermination daher ähnlich wie bei den Molluskenschrittmachern eine endogene Leitfähigkeitsveränderung für K^+ -Ionen anzunehmen, durch die das Membranpotential dem Kaliumgleichgewichtspotential zustrebt und so die Postbursthyperpolarisation generiert (Junge u. Stephens, 1973).

Die PD-Schrittmachneurone

PD-Burstentladungen sind von relativ kurzer Dauer (etwa 100-200 msec) und auch Anstieg und Abfall des "PD-Schrittmacherpotentials" ist schnell, im Vergleich etwa zu Schrittmacherentladungen bei Mollusken (Helix oder Aplysia mit Burstlängen von mehreren Sekunden (Eckert

und Lux, 1975; Alving, 1968). "PD-Schrittmacherpotentiale" wurden gemessen von der maximalen Depolarisation bis zur maximalen Hyperpolarisation der endogenen Membranpotentialoszillation. Die Amplituden erreichten bis zu 20 mV, meist lagen sie bei etwa 10 mV. Die endogenen Membranpotentialoszillationen sind überlagert von "elektrotonischen Potentialen" gekoppelter Neurone (elektrotonische Kopplung s.S.43). Die Entladungsfrequenz der Spikes (von 20-100 Hz), die während der Depolarisationswelle auftreten, nimmt bei Burstbeginn nicht oder nur kurz (1-2 Spikes) zu; im folgenden werden die Inter-spike-Intervalle innerhalb eines Bursts sukzessive länger (die Entladungsfrequenz sinkt etwa um die Hälfte).

Etwa 90% der Krabbenpräparate zeigten spontane Schrittmacheraktivität. Durch Stimulation am sgn (oder son) war es jedoch meist möglich, auch bei den restlichen nicht spontan aktiven Präparaten Schrittmacheraktivität zu evozieren. Die Anzahl der Spikes per Burst verändert sich bei einer Erhöhung der Stimulationsfrequenz und resultierenden erhöhten Burstfrequenzen nur geringfügig um einige (1-3) Spikes. Die Spikefrequenz innerhalb eines Burst nimmt allerdings bis zu 100% zu. Burstdauer und Interburstpausen werden mit zunehmender Stimulusfrequenz oder Stimulus-Intensität kürzer. Das gesamte pylorische Entladungsmuster an sich bleibt jedoch im wesentlichen unverändert.

Bei höheren Stimulusfrequenzen (etwa 40 Hz) oder -intensitäten konnte beobachtet werden, daß die burstende Entladungsaktivität in eine repetitive Entladung der PD-Neurone überging, die nach Beendigung der Stimulation meist eine erhöhte oder aber auch eine erniedrigte post-Stimulus-Oszillation zur Folge hatte. Die Burstaktivität läßt sich über eine Veränderung des Membranpotentials steuern. Kathodische Polarisation der Zellen erhöht die Burstfrequenz (Abb. 9C), während mit langen hyperpolarisierenden Strompulsen die Burstfrequenz reduziert wird. Im Verlauf dieser depolarisierenden oder hyperpolarisierenden Pulse konnte eine Adaptation der Burstentladungsaktivität beobachtet werden. Die Interburstintervalle nahmen dabei während

einer konstanten kathodischen Polarisation zu und im Verlauf einer konstanten anodischen Polarisation etwas ab. Nach Beendigung einer depolarisierenden Stromeinprägung schwingt das Membranpotential unter das Membranruhepotential, so daß (nach exzessivem Bursten) hier eine Verlängerung der Interburstintervalle auftritt. Bei nicht spontan aktiven Schrittmachern ist zu beobachten, daß nach dem Unterschwingen des Membranpotential wieder langsam auf das Membranruhepotential depolarisiert (s. Abb.9C).

Nach der Termination einer Hyperpolarisation tritt häufig erhöhtes ("rebound") Bursten auf, dessen Frequenz und Dauer abhängig ist von der vorhergehenden Hyperpolarisation.

Zellparameter s. Tabelle 2.

Die Folge Neurone LP und PY

LP und PY-Neurone besitzen unter Normalbedingungen keine endogenen "Bursteneigenschaften", wie es sich nach dem Ausschalten der PD-Neurone zeigt. Ihre auftretende "Burstentladungscharakteristik" im pylorischen Zyklus ist daher eindeutig synaptischen Ursprungs. Zellparameter dieser Neurone sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

Das LP-Neuron:

Das Soma des LP-Neurons mit einem Durchmesser von 80-100 μ gehört zu den größten Somata im StG. Ebenso ist bei extrazellulärer Ableitung das LP-Neuron im allgemeinen an den großen Potentialamplituden im pylorischen Zyklus zu identifizieren.

Die PY-Neurone:

Somadurchmesser liegen zwischen 30 und 60 μ und Spikeamplituden zwischen 4 und 40 mV (s. Tabelle 2). Extrazelluläre Spikeamplituden sind im allgemeinen relativ klein und die Entladungscharakteristika (in Bursts oder repetitiv) sind sehr unterschiedlich. Vermutlich handelt es sich um eine funktionell divergierende Gruppe (vgl. Maynard und Selverston, 1975).

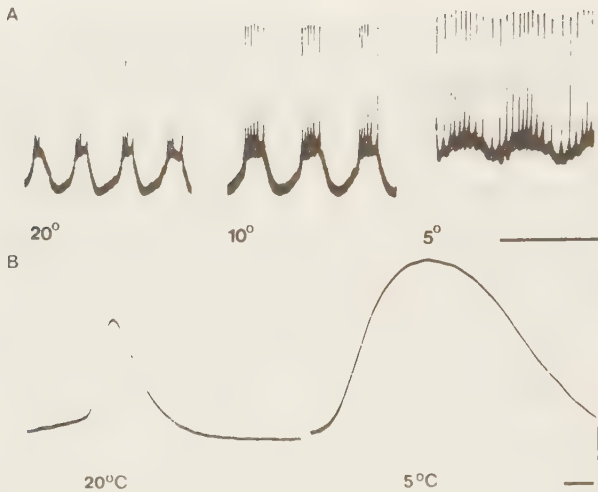


Abb. 10: Verhalten eines PD-Schrittmacherneurons während Temperaturerniedrigung von 20°C auf 5°C. A) Kalibrierung: 1 sec; 10 mV
B) einzelne Aktionspotentiale, Kalibrierung: 1 msec; 5 mV

Neuronenparameter

Membranruhepotential (MRP)

MRP's wurden zuerst etwa 10 Minuten nach der Penetration der Zellen und dann nochmals zu Versuchsende bestimmt. An der Entstehung und Aufrechterhaltung der MRP's bei Nervenzellen sind häufig elektrogene Transportvorgänge beteiligt (Zusammenfassung s. Thomas, 1972). Um zu überprüfen ob eine solche elektrogene Komponente auch am MRP pylorischer Neurone mitwirkt, wurden (vor allem an PD-Neuronen) folgende Versuche durchgeführt:

1) Temperatureinfluß: Abb. 10A zeigt ein charakteristisches Beispiel der Temperaturabhängigkeit einer PD-Zelle, die bei einer Temperaturerniedrigung von 20°C auf 5°C zu depolarisieren begann. Unter 10°C nahm die Amplitude der "Schrittmacherpotentiale" (s.S.30) ab und

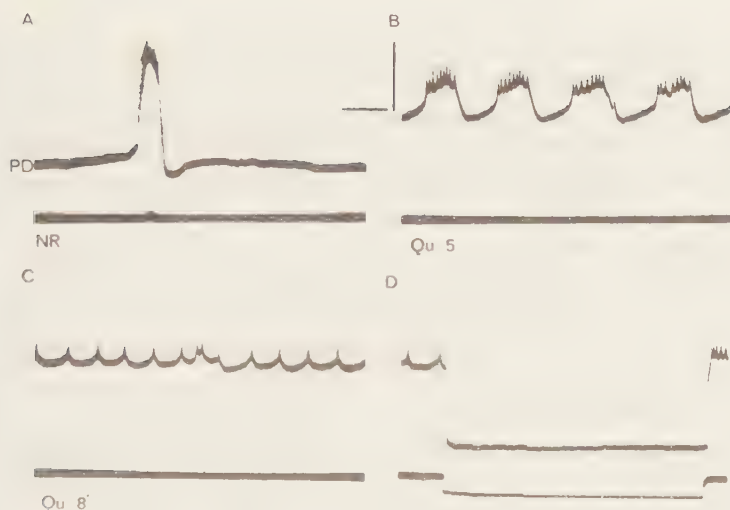


Abb. 11: Applikation von Ouabain (0,5 mM) A) Normalringer B) 5 Min. Ouabain C) 8 Min. Ouabain D) Bei Hyperpolarisation keine Rückkehr der Burstentladung (Kalibrierung: 1 sec; 10 mV)

unter 7°C trat meist nur noch repetitives Spiken auf (noch vorhandene Membranpotentialoszillation kommen durch inhibitorischen feedback vom LP-Neuron zustande. s.S.48).

2) Stoffwechselhemmer: Nach Applikation von Ouabain (0,5 mM) oder Dinitrophenol (1 mM) begannen die Zellen nach wenigen Minuten zu depolarisieren, wobei die Burstaktivität der PD-Neurone zunahm (Abb. 11). Das "Schrittmacherpotential" wurde dabei laufend kleiner, bis nach 5-10 Minuten nur noch repetitives Spiken auftrat. Nach 10 bis 20 Minuten war dann auch die Spikeaktivität geblockt und die Zellen hatten eine maximale Depolarisation von 15 bis 25 mV erreicht. Eine Repolarisation auf das ursprüngliche Membranpotential konnte die spontane Burstaktivität nicht wieder hervorrufen (s. aber Junge und Stephens, 1973 an Aplysiaschrittmachern). Diese Effekte der Stoffwechselhemmer waren bis zu etwa 30 Minuten Applikationszeiten nach wiederholtem Auswaschen mit Normalringer vollständig reversibel.

3) Für die Pumprate des Na^+/K^+ -Austausches wird häufig ein Verhältnis $3\text{Na}^+/2\text{K}^+$ angenommen (Thomas, 1972). Durch Veränderungen der Ionenkonzentration in- oder außerhalb der Zellen sollte sich die Pumprate daher beeinflussen lassen und damit eine Wirkung auf das MRP festzustellen sein. Ein erstmaliger Nachweis der verstärkten Pumprate bei Erregung (Depolarisation) von Schrittmacher-Neuronen gelang Lux und Heyer (1976) durch Bestimmung der erhöhten Kalium-Rückresorption. Perfundiert man das StG mit K^+ freiem Ringer, so tritt eine anfängliche Hyperpolarisation der Zellen auf, wie sie durch die Nernst-Beziehung vorausgesagt wird. Darauf folgte eine langsame Depolarisation, die nach 10 Minuten etwa 20-30% der ursprünglichen Hyperpolarisation betrug. Diese Depolarisation könnte einer partiellen Hemmung einer Pumpe zugeschrieben werden, die auf Grund des K^+ -Mangels im externen Milieu nicht mehr effizient arbeiten kann. Lädt man eine Zelle hingegen mit Na^+ -Ionen auf, etwa durch depolarisierende Strominjektion die starken Spikes oder Bursten evoziert, so sollte eine elektrogene Pumpe dadurch aktiviert werden, deren Nachwirkungen nach dem plötzlichen Abschalten der Depolarisation zu sehen sein müßte. Tatsächlich war nach Beendigung einer depolarisierenden Strominjektion eine Hyperpolarisation des Membranpotentials unter das MRP zu beobachten, die anschließend wieder langsam dem MRP zustrebte (s. Abb. 9C). Je nach Stärke des " Na^+ -loading", d.h. der durch Depolarisation ausgelösten Spike- und Burstaktivität, wird die Nachhyperpolarisation nach dem Abschalten der Depolarisation größer.

Alle diese Befunde machen es wahrscheinlich, daß elektrogene Transportvorgänge an der Entstehung des MRP beteiligt sind. Über eine solche Veränderung der Aktivität der Na^+/K^+ -Pumpe könnte daher das Membranpotential der PD-Neurone und damit ihre Burstentladungsaktivität, vor allem auch langfristig moduliert werden.

Paralell zu den PD-Neuronen abgeleitete LP oder PY-Neurone zeigen im wesentlichen eine ähnliche, aber meist nicht so stark ausgeprägte Abhängigkeit des MRP von aktiven Transportvorgängen.

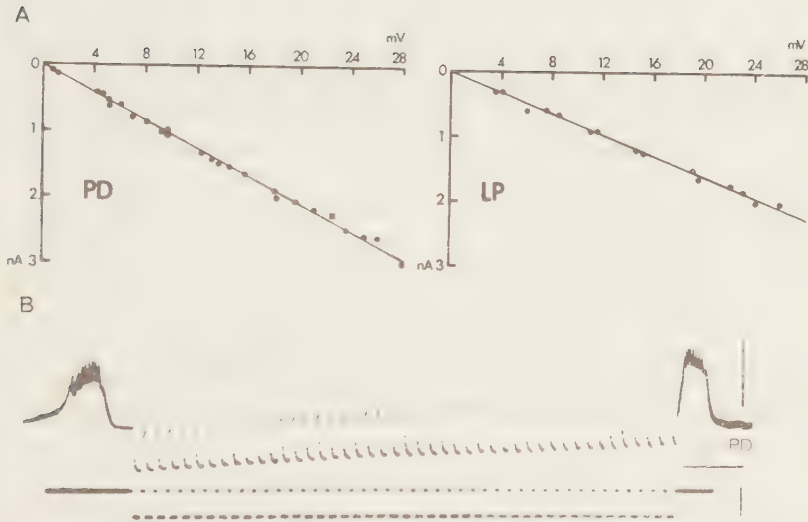


Abb. 12: A) Strom-Spannungskennlinien für ein PD- und ein LP-Neuron
B) Messung des Membranwiderstands mit hyperpolarisierenden Pulsen zwischen zwei PD-Bursts. (Kalibrierung: 0,5 sec; 10 mV; $I=0,5$ nA)

Aktionspotentiale:

Bei den untersuchten Neuronen traten Spikeamplituden bis zu 40mV auf, ein Überschießen des Membranpotentials über den Nullwert ("spike-overshoots") wurde nie beobachtet. Die Spikeinitiationszonen liegen daher vermutlich distal vom Soma (vgl. Mavrnard, 1972; Selverston, 1975). Intrazelluläre Stimulation mit kurzen depolarisierenden Strompulsen führte meist schon bei geringen Membranpotentialauslenkungen zu Aktionspotentialen, d.h. die Spiketriggerzonen können daher auch wieder nicht allzuweit vom Soma entfernt liegen, oder sie stehen durch ein sehr effizientes Kabel mit dem Soma in Verbindung. Die Anstiegsgeschwindigkeiten der Aktionspotentiale lagen bei 25 V/sec (20°C). Nach einer Temperaturerniedrigung von 20 auf 5°C stiegen die Spikeamplituden um etwa 60% an und gleichzeitig waren die Spike-

kinetiken verlangsamt (Abb.10B). So war die Dauer der Aktionspotentiale (gemessene Halbamplitude) bei tiefer Temperatur wesentlich länger (5°C : $4,7 \pm 0,6$ msec) als bei höheren Temperaturen (20°C : $1,4 \pm 0,1$ msec) und die Anstiegsgeschwindigkeit der Spikes war reduziert auf 11 V/sec. Ein solches Verhalten der Spikeparameter läßt sich durch "Tiefpasseigenschaften" eines Neuritensegments zwischen Spiketriggerzone und dem Ableitort im Soma erklären. Die schnellen, hochfrequenten Spikes bei Zimmertemperatur werden stärker reduziert als die langsameren Spikes bei tieferen Temperaturen. Niederfrequente Signale werden also durch einen solchen Tiefpass nicht oder kaum beeinträchtigt. Das erklärt auch, daß verhältnismäßig hohe Amplituden der Schrittmacherpotentiale (bis 20 mV) im Soma abgeleitet werden können, die sich bei der Temperaturerniedrigung kaum verändern (s. Abb.10A), oder auch, daß die Spikenachhyperpolarisationen überproportional groß erscheinen, im Vergleich zum Spikeanstieg. An der gesamten Aktionspotentialamplitude ist die Nachhyperpolarisation oft zu 50% und mehr beteiligt, während sie für somanahe Spikes (vgl. Streckrezeptor) nur etwa 5-20% beträgt.

I-V-Beziehung:

Um ein "steady-state" bei der Messung der Strom-Spannungsbeziehung (I-V) der Membran zu erreichen, wurden Rechteck-Impulse von 100-1000 msec Dauer verwendet. Anomale Gleichrichtung der Somamembran war nicht festzustellen; auch nicht bei Schrittmacherneuronen (Abb.12A). (s. aber Barker und Gainer, 1975)

Membranwiderstand (R_N):

Der Eingangswiderstand (Gesamtneuronenwiderstand) R_N läßt sich aus dem Anstieg der I-V Beziehung bei $I=0$ ermitteln (s. Abb.12A und Tab.2). Bei Schrittmacherzellen läßt sich in der "Interburstphase" eine Zunahme des Membranwiderstands feststellen (Abb.12B).

Membranzeitkonstante (τ_m):

Die Zeitkonstanten τ_m wurden aus dem Diagramm $\frac{dV}{dt}$ gegen die Zeit t bestimmt. (Rall, 1960). Die Spannungsänderung folgt keinem ein-

fachen exponentiellen Zeitverlauf. Eine Gerade läßt sich nur für späte Anteile des Potentialverlaufs ermitteln, wie man es für ein Neuronenmodell mit Dendriten begrenzter Länge erwarten kann (Lux, 1967). Für die ersten etwa 50 Millisekunden war eine Abweichung von dieser Linearität festzustellen, die auf eine verzögerte Aufladung vom Soma entfernter Membranbezirke (Kollateralen) zurückzuführen ist.

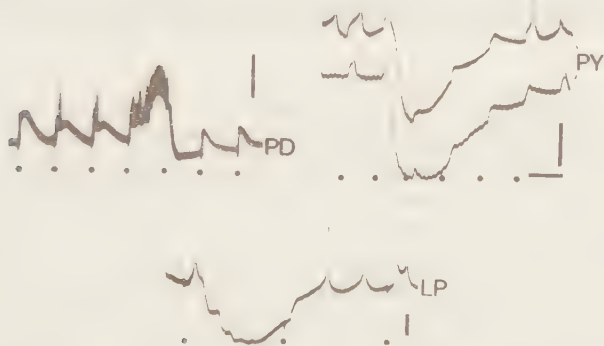


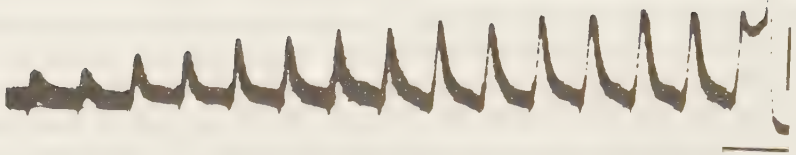
Abb. 13: Exzitatorischer Eingang (durch Punkte markiert) auf die PD, LP und PY-Neurone während einer Stimulation am son. Kalibrierung: 0,1 sec; 5 mV

Der extraganglionäre exzitatorische Eingang

Bei Stimulation am sgn oder son sind von allen untersuchten pylorischen Neuronen (PD, LP, PY) exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSPs) abzuleiten (Abb.13). Ihre Amplituden nahmen bei Erhöhung der Stimulusintensität durch Erregung weiterer Eingangsfasern bis auf maximale Werte zwischen 5 und 12 mV zu. Die Halbwertszeit des EPSP-Abfalls ($t_{\frac{1}{2}}$) lag meist zwischen 60 und 180 msec (max. bis zu 500 msec).

Die Anzahl der Synapsen, die auf ein Neuron konvergieren, läßt sich annähernd durch graduelle Veränderung der Stimulusintensität er-

A



B

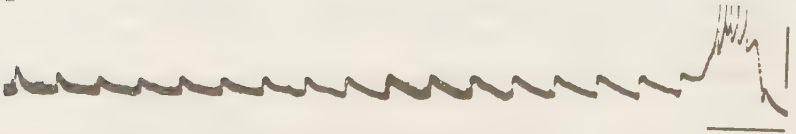


Abb. 14: Extraganglionärer, exzitatorischer Eingang auf PD-Neurone bei Stimulation am son. A) Erhöhung der Stimulusstärke B) Initialer Teil, Antifazilisierung über zwei bis drei EPDP's; anschließend Fazilisierung, die zum Bursten führt. (Kalibrierung: 0,5 sec; 5 mV)

mitteln, sie liegt zwischen 6-9 exzitatorische Kontakte pro Neuron (s. Abb. 14 A). Diese Befunde stehen im Einklang mit anatomischen Daten des Eingangsnerve zum StG beim Hummer, wobei der son-Eingangsnerv wesentlich mehr Fasern enthält als der Ausgangsnerv (dvn) (Verhältnis 6:1, s. E. Maynard, 1971).

Bei einigen Präparaten war zu Beginn einer Stimulation eine kurze Antifazilisierung festzustellen, die über zwei bis drei aufeinanderfolgende EPSP's auftrat (Abb.14B). Eine weitere Stimulation führte dann aber zu einer Fazilisierung, die schließlich bei nicht spontan-aktiven PD-Neuronen meist Burstaktivität auszulösen vermochte (Abb.14).

Die EPSP's an den Schrittmacherneuronen ändern während eines Burstentladungszyklus ihre Amplituden und Zeitverläufe, und zwar sind sie vor einem Burst deutlich größer als nach einer Burstentladung (Abb.13A, 15A). Ein Stimulus kurz vor einem Burst kann daher z.B. Spikes auslösen, während durch den gleichen Stimulus kurz nach einem Burst keine Aktionspotentiale evoziert werden können (s. Abb. 13A). Ähnliches läßt sich mit depolarisierenden Störpulsen zu verschiedenen Zeiten in der Interburstphase beobachten (Abb.15B).

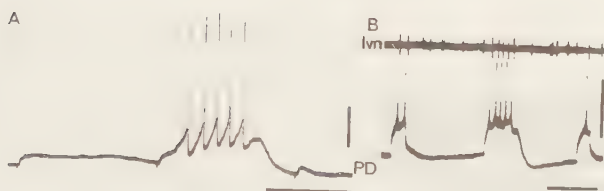


Abb. 15: A) EPSP vor und nach einer Schrittmacherentladung.
 B) Depolarisierende Stimpulse vor und nach einem ebenfalls durch
 Depolarisation ausgelösten PD-Burst (Mitte) Kalibrierung: 0,5 sec;
 10 mV

Dies zeigt, daß es sich bei diesem Effekt um einen postsynaptischen Mechanismus handeln muß. Da gleichzeitig der Membranwiderstand während der Interburstphase zunimmt (Abb. 12B) lassen sich die Veränderungen der EPSP-Parameter möglicherweise durch einen "Nebenschluß" der Zellmembran erklären. Auch die mit einer Membranwiderstandserhöhung verbundene Zunahme der Längskonstanten (λ) während der Interburstphase würde ein im Soma abgeleitetes EPSP distaler Entstehung zunehmend größer und die Anstiegs- und Abfallzeiten länger erscheinen lassen. Das bedeutet aber, daß Schrittmacherzellen einen intrinsischen Mechanismus besitzen, um auf die Effizienz ihres synaptischen Eingangs zurückzuwirken.

Spikes oder Bursts entstehen auch häufig erst in der Abfallphase der EPSP's (s. Abb. 15A, B). Dieses Phänomen läßt sich mit der Annahme erklären, daß exzitatorische Synapsen und Spike- oder Burstinitiierungszonen in ihrer distalen Lage zum Zellsoma weit auseinander liegen. EPSP's können aber auch unmittelbar zu Spikes führen, was mit einem direkten Verlauf des exzitatorischen Signals über die Integrationszone des Neurons erklärt werden könnte. Ähnliche Beobachtungen einer Spikeentstehung wurden von Watanabe et al. (1967) an Krustazeen-Herschrittmacherneuronen gemacht.

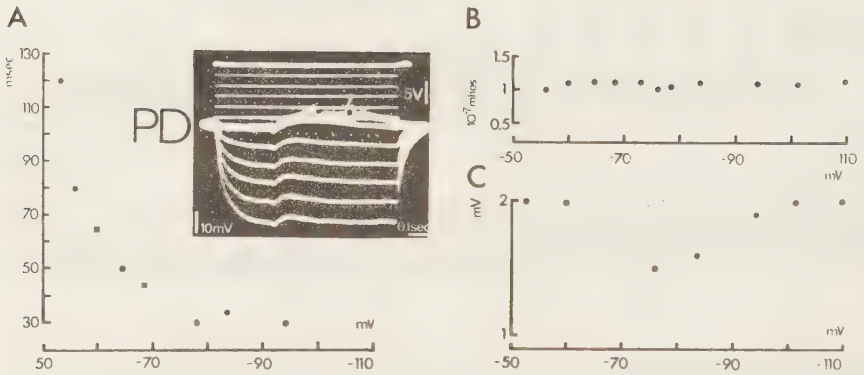


Abb. 16: Verhalten der EPSP's am PD-Neuron bei Somahyperpolarisation: Abszisse bei A, B, C, jeweils Membranpotential A) Ordinate: Halbwertszeit des EPSP-Abfalls ($t_{1/2}$), B) Ordinate: Membranleitfähigkeit C) Ordinate: EPSP-Amplitude

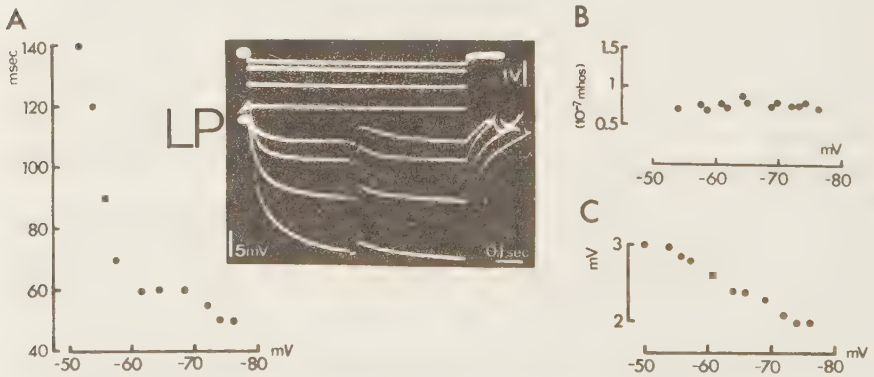


Abb. 17: Verhalten der EPSP's am LP-Neuron bei Somahyperpolarisation Abszisse bei A,B,C, jeweils Membranpotential A) Ordinate: Halbwertszeit des EPSP-Abfalls ($t_{1/2}$) B) Ordinate: Membranleitfähigkeit C) Ordinate: EPSP-Amplitude

Verhalten der EPSP's bei Soma-Hyperpolarisation:

Die EPSP's an den StG-Neuronen kommen vermutlich, wie bei anderen Neuronen auch (Eccles, 1964), durch Zunahme der Membranleitfähigkeit für ein oder mehrere Ionen zustande, wobei das Membranpotential gegen ein Umkehrpotential in der Nähe des Null-Punktes strebt. Eine Hyperpolarisation der Zellmembran sollte daher durch Erhöhung der treibenden Kraft eine Vergrößerung der EPSP-Amplitude, eine Depolarisation dagegen eine Erniedrigung ergeben. Die Untersuchungen zeigten nur bei einigen wenigen EPSP's ein solches Verhalten.

Meist bleibt bei Membranhyperpolarisation die EPSP-Amplitude gleich oder wird sogar reduziert; auch die Dauer der EPSP's wird vermindert (Abb. 16, 17).

Die Abnahme der EPSP-Amplituden und ihres Zeitverlaufs ließen sich beide mit einer spannungsabhängigen Leitfähigkeit (anomale Gleichrichtung) der Somamembran erklären (Kandel und Tauc, 1966). Die Abbildungen 16 und 17 zeigen je ein Diagramm der Leitfähigkeit eines PD-Neurons und eines LP-Neurons als Funktion des Membranpotentials. Die meisten der untersuchten Neurone zeigten jedoch bei Hyperpolarisation keine signifikante Leitfähigkeitsänderung der Somamembran. Als Alternative kommt daher entweder eine Leitfähigkeitserhöhung zwischen den Synapsen an distalen Axonkollateralen und dem Soma in Frage, wobei die Längskonstante reduziert und damit der elektrotonische Abstand verlängert wird oder es treten Leitfähigkeitsveränderungen allein an der subsynaptischen Membran auf. Gegen letztere Hypothese spricht allerdings, daß in Präparaten, bei denen mit Hyperpolarisation eine Erhöhung der EPSP-Amplituden zu beobachten war und daher eine höhere Lokalisation des synaptischen Eingangs zum Soma angenommen werden kann (und damit auch der Einfluß auf die subsynaptische Membran verstärkt sein müßte) keine, auch nur vorübergehende Verkleinerung der Amplitude auftrat.

Zum Mechanismus der Inhibition

Wie Untersuchungen zum Mechanismus der postsynaptischen Hemmung an verschiedenen Präparaten gezeigt haben (Lux und Schubert, 1969; Meyer, 1972), ist hierfür vorwiegend ein Cl^- -Gradient über der Zellmembran verantwortlich, dessen Gleichgewichtspotential durch aktiven, auswärtsgerichteten Cl^- -Transport eingestellt wird. Hinweise auf einen solchen Hemmmechanismus kann man durch Veränderungen am transmembranalen Cl^- -Gradienten oder durch Blockierung des aktiven Auswärtstransports von Cl^- erhalten (Lux, 1971; Meyer und Lux, 1974). Bei der hier untersuchten Hemmung ergaben sich Befunde, daß ein ähnlicher Hemmmechanismus beteiligt ist:

- 1) Perfusion des StG mit Cl^- -vermindertem Ringer (1,7% der Normalringerkonzentration), wobei Cl^- durch äquimolare Mengen eines impermeablen Anions, wie Propionat oder Isäthionat ersetzt worden war, reduzierte die Hemmung am LP- und PY-Neuron gleichermaßen auf etwa 90%.
- 2) Bei intrazellulärer, elektrophoretischer Injektion von Cl^- war bei der LP-PD-Hemmung sogar eine Umkehr der IPSP's zu beobachten.
- 3) Durch Ammonium-Ionen (NH_4^+ /5mM) konnte die Hemmung an LP und PY-Neuronen gleichermaßen geblockt werden.
- 4) Das Gleichgewichtspotential der Hemmung (E_{IPSP}) an LP und PY-Neuronen liegt etwa 20 mV unter dem Membranruhepotential.

Auf Grund dieses identischen Verhaltens der Hemmung an den LP- und PY-Neuronen, ihres ähnlichen E_{IPSP} 's und ihrer ähnlichen Amplituden ist anzunehmen, daß auch die Hemmmechanismen identisch sind. Die zum Membranruhepotential relativ negativen E_{IPSP} 's (im vgl. zu Streckrezeptor E_{IPSP} mit 10 mV unter dem Membranruhepotential) können mit einem großen elektrotonischen Abstand der hemmenden Synapsen vom Som erklärt werden (s. dazu auch Diskussion S. 73).

Synaptische Interaktionen

Die synaptischen Interaktionen der Motoneurone, die an der Entstehung des pylorischen Musters beteiligt sind, lassen sich durch simultane intrazelluläre Ableitungen von je zwei Neuronen zeigen. Kriterien für eine direkte synaptische Verbindung waren ein Eins-zu-eins-Verhältnis, sowie eine konstante Latenz zwischen präsynaptischem Spike (durch depolarisierende Stromeinprägung im Soma ausgelöst) und postsynaptischer Antwort.

Einige der synaptischen Interaktionen werden im folgenden im Detail behandelt.

PD-PD-Interaktion

Eine elektrotroische Kopplung zwischen Nervenzellen läßt sich am eindeutigsten identifizieren, indem man von zwei Zellen gleichzeitig intrazellulär ableitet und bei der Einprägung polarisierender Strompulse eine direkte Übertragung von einer Zelle auf die andere beobachten kann. In Abb. 18 B ist das Ergebnis eines solchen Experiments bei gleichzeitiger Ableitung von zwei m-PD-Neuronen gezeigt. Der Abschwächungsfaktor der elektrotroischen Kopplung liegt zwischen 3 und 5; eine Gleichrichtung war nicht festzustellen. Für Aktionspotentiale ist die elektrotroische Abschwächung noch wesentlich größer als für die langen Membranpolarisationen und liegt hier zwischen 10 und 20. Die kleinen depolarisierenden Potentiale auf der in Abb. 18 B unten dargestellten PD-Zelle sind daher als elektrotroische, ephaptische Potentiale identifiziert, die von den Aktionspotentialen des anderen m-PD-Neurons stammen. Aufgrund des langsamen Abklingens der elektrotroisch übertragenen Potentiale kommt es während eines Bursts zur Summation (Abb. 18 B / 19 A). Die ephaptischen Potentiale, die durch Aktionspotentiale hervorgerufen werden, überlagern sich dabei mit der langsamen, ebenfalls elektrotroisch übertragenen endogenen Membranpotentialoszillation der Schrittmacher (Abb. 19 A).

Für eine Übertragung des langsamen Schrittmacherpotentials spricht vor allem auch die zu beobachtende Postbursthyperpolarisation.

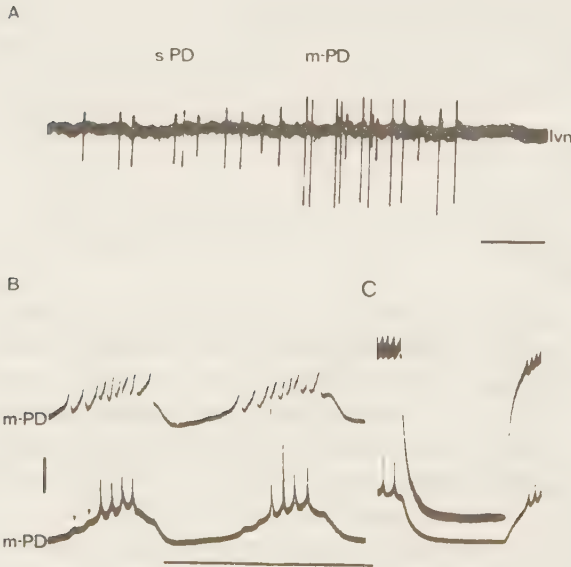


Abb. 18: Elektrotonische Kopplung der PD-Neurone. A - Die extrazelluläre Ableitung zeigt eine Entladung der s-PD-Neurone vor und während der Entladung der m-PD-Neurone. Zeitmarke: 100 msec. B - Intrazelluläre Ableitung von zwei m-PD-Neuronen gleichzeitig. Pfeile markieren elektrotonische Potentiale. C - Demonstration der elektrotonischen Kopplung durch das Übersprechen eines hyperpolarisierenden Pulses im Soma (obere Spur) auf das gekoppelte Neuron (unter Spur). Kalibrierung: 0,5 sec; 10 mV.

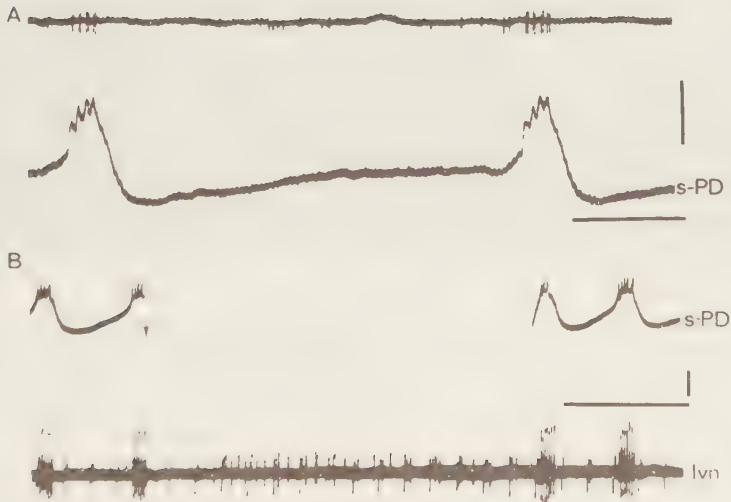


Abb. 19: Elektrotonische Kopplung der s-PD-Neurone. A - Die extrazelluläre Spur (oben) zeigt eine Entladung der m-PD-Neurone deren elektrotonische Kopplungspotentiale auf der intrazellulären Ableitung (unten) eines leicht hyperpolarisierten s-PD-Neurons zu verfolgen sind.

B - Bei stärkerer Hyperpolarisation des s-PD-Neurons (obere Spur) wird auch die Entladungsaktivität der m-PD-Neurone (s. extrazelluläre Spur unten) verhindert.

Die elektrotonische Kopplung der s-PD-Neurone untereinander und mit den m-PD-Neuronen läßt sich durch sukzessive Erhöhung der Hyperpolarisation in einem der s-PD-Neurone demonstrieren. Eine schwache Hyperpolarisation wirkt sich dabei zunächst auf das gekoppelte s-PD-Neuron aus, das dadurch nicht mehr zur Entladung kommt, während sich die m-PD-Neurone weiter entladen (Abb. 19 A). Stärkere Hyperpolarisation verhindert schließlich die Entladung aller PD-Neurone.

Funktion der elektrotrotonischen Kopplung

In verschiedenen motorischen Systemen ist eine wichtige Funktion der elektrotrotonischen Kopplung die 'Synchronisation der neuronalen Entladung' (Kending, 1968; Bennett, 1972). Eine derartige Synchronisationsfunktion ist auch der elektrotrotonischen Kopplung der PD-Motoneurone im StG zuzuschreiben. Die Depolarisation in einer Zelle (etwa hervorgerufen durch die endogene Membranoszillation) führt zu einer Depolarisation in den Nachbarzellen, so daß sie gemeinsam der Entladungsschwelle näher gebracht werden. Eine sehr enge Korrelation der Spikes ist jedoch meist nur in der initialen Phase paralleler Bursts zu beobachten (Abb. 18 A). Während der folgenden Spike-Entladungen im Burst ist eine zunehmend stärkere Entkopplung feststellbar.

Die Auswirkung dieses spezifischen Entladungsmusters der PD-Neurone auf die Hemmung der Folgeneurone soll am Beispiel der m-PD-LP-Interaktionen im folgenden näher untersucht werden. Abb. 20 A zeigt eine simultane intrazelluläre Ableitung dieser Neurone. Um die Eingangscharakteristik des einzelnen PD-Neurons auf das LP-Neuron zu untersuchen, war das PD-Neuron soweit hyperpolarisiert worden, daß es nicht mehr zur Entladung kam, während sich das elektrotrotonisch gekoppelte PD-Neuron weiter spontan entladen konnte. Die Entladungsaktivität dieses PD-Neurons ist am LP-Neuron durch deutliche IPSP's zu verfolgen, die sich während des PD-Bursts summieren, sowie durch elektrotrotonische Potentiale, die sich am abgeleiteten PD-Neuron abzeichnen. Bei simultaner Entladung beider PD-Neurone in ihrem spezifischen Entladungsmuster überlagern sich die Hemmpotentiale am LP-Neuron derart, daß es zu dem typischen Hemmverlauf kommt, der in Abb. 20 B demonstriert ist. Die enge Synchronisation der initialen Spikes beider PD-Bursts hat dabei den steilen Anstieg der Hemmung zur Folge, während der weitere glatte Verlauf des hyperpolarisierenden Plateaus der Hemmung einer immer weniger synchronisierten Entladung der PD-Neurone zuzuschreiben ist.



Abb. 20 : PD-LP-Interaktion. A - Wirkung der Entladung eines einzelnen PD-Neurons (nicht dargestellt, aber durch IPSP's am LP-Neuron und elektrotrotonische Potentiale am leicht hyperpolarisierten m-PD-Neuron zu verfolgen) auf den Hemmverlauf am LP-Neuron.
B - Wirkung der Entladungsaktivität beider m-PD-Neurone gleichzeitig auf den Verlauf der Hemmung am LP-Neuron. Kalibrierung: 100 msec, 5 mV.

PD-LP-Interaktion

m-PD und s-PD-Neurone konvergieren beide auf das LP-Neuron (Abb. 21 A), wobei die Amplituden der IPSP's von den m-PD-Neuronen die größeren sind (Tab. 3). Die Latenz zwischen PD-Spikes und LP-Hemmung beträgt etwa 4-5 msec. Die negative Rückkopplung des LP-Neurons auf die PD-Neurone ist relativ schwach, die Amplituden der IPSP's liegen unter 1 mV und häufig waren überhaupt keine Hemmpotentiale abzuleiten. Um die Wirkung dieser feedback-Hemmung auf die Burstfrequenz der PD-Neurone näher zu untersuchen, wurde die Entladung des LP-Neurons durch hyperpolarisierende Stromeinprägung verhindert (Abb. 21A). Es zeigte sich dabei keine signifikante Wirkung auf die PD-Burstfrequenz. Nach Beendigung der Hyperpolarisation feuert die LP-Zelle verstärkt ("rebound"), wodurch das Interburstintervall der PD-Neurone vergrößert wird (Abb. 21 A). Dabei tritt eine kurze vorübergehende Facilitation der feedback-Hemmung auf. So ist das zweite und dritte

PD-Interburstintervall trotz einer geringeren Anzahl von LP-Spikes größer als das erste PD-Intervall (Abb. 22). Im Folgenden nimmt diese Wirkung auf die Entladungsfrequenz der PD-Neurone sehr rasch wieder ab, und bei etwa 10 Spikes pro LP-Entladung ist kein Effekt auf die PD-Entladung mehr festzustellen. Das heißt aber, daß während der normalen pylorischen Entladungsaktivität der negative feedback des LP-Neurons (mit normalerweise etwa 3 - 6 Spikes pro Entladung) unwirksam bleibt.

Einen Hinweis auf die Funktion dieser LP-PD-feedback-Hemmung konnte schließlich aus den folgenden Experimenten erhalten werden: Bei Temperaturerniedrigung auf 5°C war die Entladungsaktivität der Schrittmacher in "Burstform" nur noch sehr undeutlich feststellbar (s. Abb. 10 A). Hier wird nun der inhibitorische feedback-Eingang vom LP-Neuron wirksam, der eine Burstentladungscharakteristik aufrecht erhalten kann (Abb. 21 B).

Das Kontrollexperiment an einem anderen Präparat, bei dem keine LP-Aktivität (aber spontane PD-Burstaktivität) vorlag, zeigte bei Temperaturerniedrigung nur repetitive Entladung der PD-Neurone (Abb. 21 C). Die PD-LP-feedback-Hemmung könnte daher eine Art Sicherheitsfaktor darstellen, der eine "burstende" Entladungscharakteristik von PD-Neuronen, deren endogene Aktivität geschwächt ist (etwa durch Stoffwechseleinflüsse, Ionenveränderungen im externen Milieu, Verletzung etc.) aufrechterhalten kann.

PD-PY-Interaktion

Die PY-Neurone erhalten ebenfalls inhibitorischen Eingang von den PD-Neuronen (Abb. 23 B). Im allgemeinen ist die Latenz der PD-PY-Hemmung länger, der Anstieg und Abfall der Hemmpotentiale langsamer und die Amplituden variabler als die der PD-LP-Hemmung (s. Tab 3).

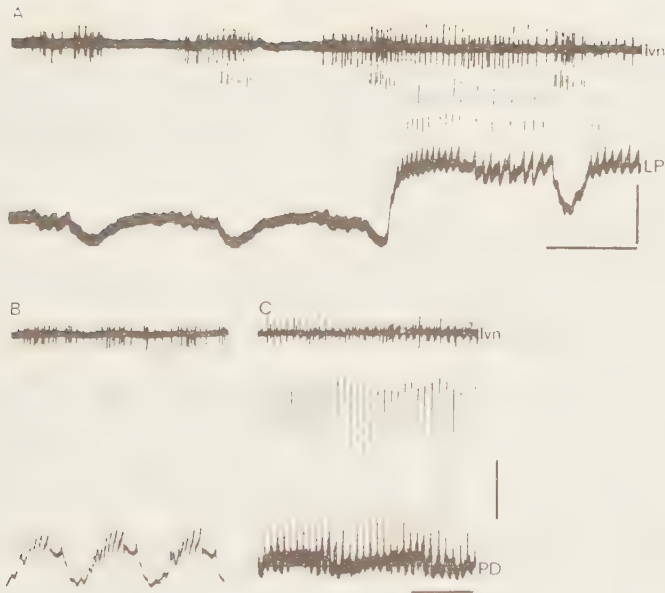


Abb. 21: Die negative Rückkopplung des LP-Neurons auf die PD-Neurone. A - Initialer Teil: Hyperpolarisation des LP-Neurons (unten), und folgende Repolarisation bei der das Neuron verstärkt im "rebound" feuert. B, C - Badtemperatur 7°C. PD-Entladung mit (B) und ohne (C) negative Rückkopplung des LP-Neurons. (Kalibrierung: 0,5 sec; 10 mV).

Bei einigen der penetrierten PY-Neurone trat vor dem Einsetzen der Hemmung ein kurzes depolarisierendes Präpotential auf (Abb. 23 B,C; 24 A). Um dessen Natur zu ermitteln, war mit Ca^{2+} -freiem Ringer perfundiert worden, um damit die chemischen Synapsen zu blockieren (s. Zucker, 1972). Die dabei anfänglich erhöhte Burstaktivität (auf Grund der Depolarisation der Zellen) ging nach einigen Minuten in

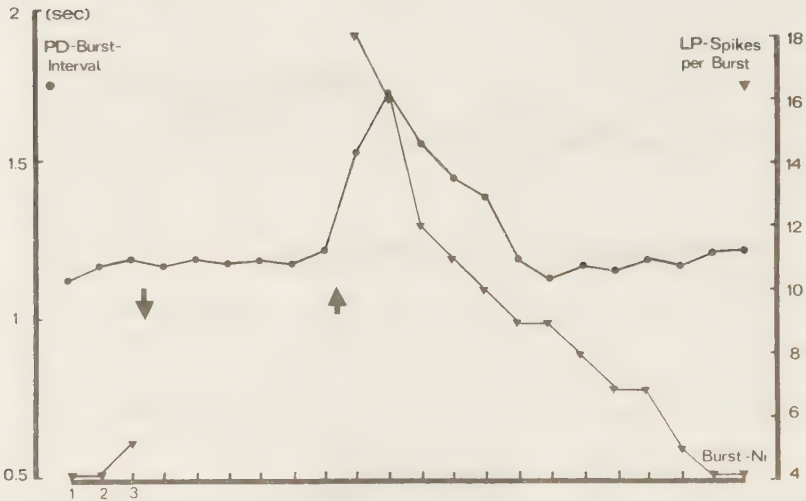


Abb. 22: Wirkung der negativen Rückkopplung vom LP-auf die Entladung des PD-Neurons. Zwischen den Pfeilen war die Entladung des LP-Neurons durch Hyperpolarisation ausgeschaltet worden. (●:PD-Burst; ▼ LP-Entladung).

repetitives Spiken über. Die Hemmung hingegen war nach ein bis zwei Minuten bereits geblockt. An ihrer Stelle erschienen nun am PY-Neuron ausgeprägte depolarisierende Potentiale, die von den noch aktiven PD-Neuronen stammten (Abb. 24 B). Das gab Anlaß zu der Vermutung, daß es sich dabei um elektrotonische Potentiale handelte, die erst nach dem Blocken der chemischen Synapse vollständig zum Vorschein kamen. Für einige PD-PY-Kombinationen konnte eine solche elektrotonische Kopplung auch direkt beobachtet werden (vgl. S. 43). Sie ist relativ schwach (im Vergleich etwa zur PD-PD-Kopplung), der Abschwächungs-

faktor beträgt etwa 10 - 20. Der biphasische Potentialverlauf an den PY-Neuronen läßt sich daher durch Superposition des elektrotonischen Potentialverlaufs und der Hemmung folgendermaßen erklären:

1) Die depolarisierende Auslenkung vor Beginn der Hemmung am PY-Neuron (Abb. 24 A, s. Pfeil 1) ist ein elektrotonisches Potential, das sich durch seine schnellere Transmissionsgeschwindigkeit vor Beginn der langsamer übertragenen chemischen Hemmung entwickeln kann.

2) Die extrem lange Verzögerung bis zum Einsetzen der Hyperpolarisation (Abb. 24 A, 11 msec) und der langsame Anstieg des Hemmpotentials resultiert aus der Überlagerung inhibitorischer und elektrotonischer Potentiale.

3) Der zweite, langsamere Verlauf des Hemmpotentials am PY-Neuron (Abb. 24 A, s. Pfeil 2) wird durch die elektrotonisch übertragene Postbursthyperpolarisation der Schrittmachenneurone verursacht.

Ein solcher biphasischer Potentialverlauf war aber nur bei etwa 20 % der untersuchten PY-Neurone zu beobachten. Seine vermutliche Funktion bei der Genese des pylorischen Entladungsmusters wird in der Diskussion näher behandelt.

LP-PY-Interaktion

LP- und PY-Neurone sind reziprok hemmend untereinander verschaltet (Abb. 7, 23). Da sich die PY-LP-Hemmung jedoch relativ langsam entwickelt (s. Abb. 23 A,C) können während einer Übergangsphase gleichzeitig Entladungen der LP- und der PY-Neurone auftreten.

Die erhaltenen synaptischen Interaktionen der pylorischen Neurone sind im Diagramm 25 noch einmal zusammenfassend dargestellt.

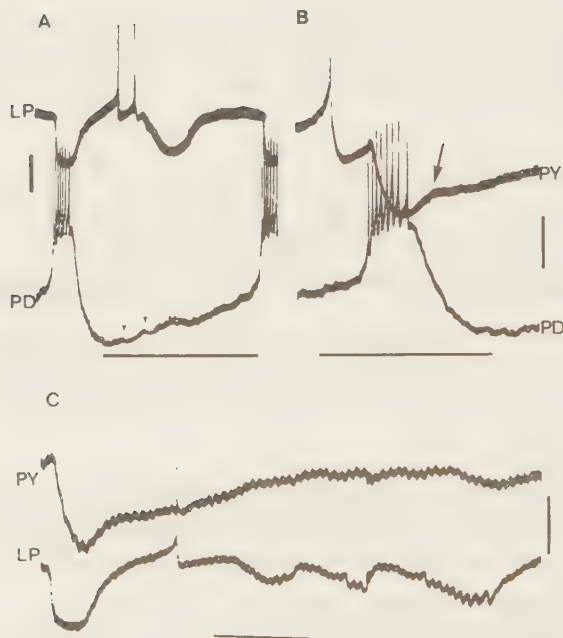


Abb. 23: Synaptische Interaktionen der PD, LP und PY-Neurone, demonstriert durch simultane intrazelluläre Ableitung von jeweils zwei Neuronen. A - Hemmung des LP-Neurons (obere Spur) während der PD-Entladung (untere Spur) und negative Rückkopplung auf die PD-Neurone nach der LP-Aktivität (s. kleine Pfeile). Am LP-Neuron kann eine weitere Hemmung beobachtet werden, die von einem PY-Neuron stammt. B - PD-Entladung (untere Spur) mit der Hemmung eines PY-Neurons (obere Spur, Pfeil: Überlagerung durch die Hemmung vom LP-Neuron. C - Ableitung von einem LP- und einem PY-Neuron, während einer Entladung der PD-Neurone (nicht dargestellt) deren Hemmung im initialen Teil der Abb. zu verfolgen ist. Zeitmarken in A: 1 sec, in B und C 0,5 sec Spannung 5 mV für alle Ableitungen.

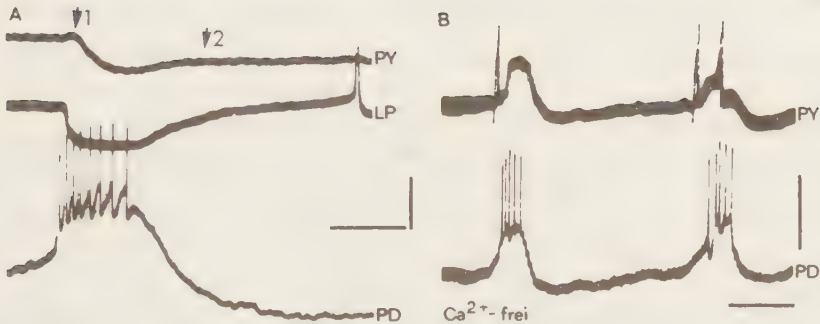


Abb. 24: Die PD-PY-Interaktion. A - Vergleich des Verlaufs der Inhibition am LP- und PY-Neuron. Pfeil 1: depolarisierendes Präpotential; Pfeil 2: elektrotonisch übertragene Postbursthyperpolarisation; Kalibrierung: 0,1 sec; 10 mV.

B - PD-PY-Interaktion in Ca^{2+} -freien Ringer (etwa 2 Min. nach Ringer-austausch). Anstelle der Hemmung tritt nun ein depolarisierendes Potential. Kalibrierung: 0,5 sec; 10 mV.

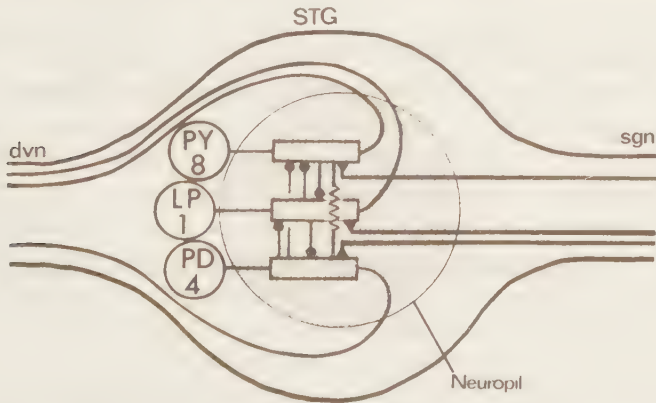


Abb. 25: Vereinfachtes Schaltdiagramm der PD, LP und PY-Neurone. Jeder Neuronentyp ist nur durch ein Symbol dargestellt, die Nummern geben ihre tatsächliche Anzahl an. Vom Soma (große Kreise) zieht ein dünner Neurit in das Neuropil (gepunktet), der Kollateralbereich jedes Neurons ist als Rechteck dargestellt.

● : repräsentiert inhibitorische Synapsen. ▲ : Exzitatorische Synapsen. Eine elektrotonische Kopplung zwischen einigen PD-PY-Neuronen ist durch $\text{---}\text{w}\text{---}$ dargestellt. Die Axone verlassen das StG caudal über den dvn. Die elektrotonische Kopplung der PD-Neurone untereinander ist nicht eingezeichnet.

II MODIFIKATION DES PYLORISCHEN ENTLADUNGSMUSTERS DURCH DEN EINGANG VON KOMMANDOFASERN

Durch Erregung einiger weniger prämotorischer Eingangselemente kann bei Arthropoden eine komplexe motorische Ausgangsaktivität evoziert oder modifiziert werden. Solche "Kommandofasersysteme" (engl. command-fibres) (Wiersma und Ikeda, 1964) sind bisher verschiedentlich sehr ausführlich deskriptiv behandelt worden. Eine der nun folgenden Aufgaben ist es, die Natur und Spezifität der Interaktionen zwischen Kommandofasern und Folgeelementen oder etwa auch die der Folge neuronen untereinander (s. vorhergehendes Kapitel) zu analysieren und somit zugrundeliegende Mechanismen einer solchen Kommandofaserooperation verstehen zu lernen. Von besonderem Interesse schien es, die Steuerung der Entladungsaktivität von Schrittmacherneuronen durch einen solchen Kommandofasereingang zu untersuchen, da diesen Neuronen häufig eine zentrale integrative Funktion zugeschrieben wird.

Kommandofasern spielen auch bei der Modulation des pylorischen Ausgangsmusters eine wichtige Rolle. So fanden Dando und Selverston (1972) an *Panulirus argus*, daß bei der Stimulation am ivn zwei Fasern aktiviert werden, die in direkter Verbindung zum StG stehen und dort frequenzabhängige Veränderungen in der pylorischen Rhythmizität hervorrufen. Kürzlich haben Dando et al. (1974) an *Cancer pagurus* einen weiteren Kommandofasereingang beschrieben, durch den das pylorische Entladungsmuster eine qualitative Änderung erfährt. Es kommt dabei zu einer Erhöhung der Burstfrequenz der PD-Schrittmacherneurone und gleichzeitig zu einer Reduktion oder Hemmung der Entladungsaktivität der antagonistischen LP- und PY-Neurone. Es war die Hypothese aufgestellt worden, daß Kommandointerneurone allein auf die PD-Schrittmacher im pylorischen Zyklus konvergieren und so die charakteristischen Ausgangsveränderungen auslösen. Diese Hypothese sollte im folgenden vor allem durch intrazelluläre Ableitungen am *in situ*, sowie am isolierten Präparat näher untersucht werden (s. Hermann und Dando, 1976).

Extrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat während Reflexaktivität

Abb. 26 A zeigt das typische Reflexmuster bei elektrischer Stimulation (15-20 Hz) am psn. Es ist charakterisiert durch eine Beschleunigung der PD-Burstentladung, eine fortschreitende Vergrößerung des Intervalls zwischen der Entladung der PD-Neurone und des LP-Neurons, sowie durch eine sukzessive Abnahme und schließlich sogar dem Ausfall der Entladungsaktivität der LP und PY-Neurone ("psn-Reflexmuster"). Eine gleichzeitige extrazelluläre Ableitung von sgn (Ableitung mit Saugelektrode) zeigt, daß das StG während

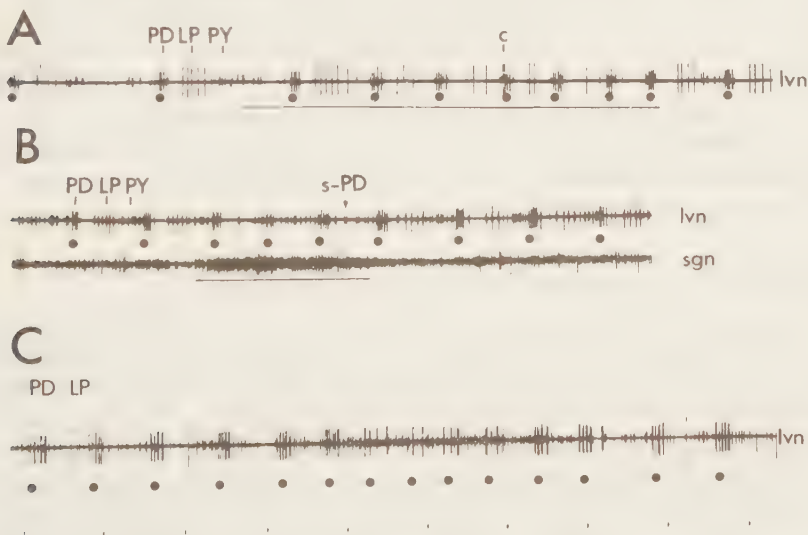


Abb. 26: Extrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat, mit einer Darstellung evozierter und spontaner pylorischer Ausgangsmodifikationen. A - Diese Ableitung von lvn zeigt den pylorischen Ausgang vom StG während spontaner Aktivität und während einer Stimulation am psn. Die größeren Spikes im Dilatorburst (c) entstehen durch Überlagerung von Spikes. B - Simultane Ableitung vom Ausgangs- (lvn, obere Spur) und dem Eingangsnerve (sgn, untere Spur) des StG, während spontaner und Reflexbedingungen. C - Ableitung von lvn während spontaner gastrischer Aktivität.

PD-Bursts sind durch große Punkte gekennzeichnet. Die Stimulation am psn (20 Hz) ist durch eine Linie, unter den Ableitungen angedeutet. Zeitmarken (Bild unten) 1 sec Abstand.

der Reflexaktivität einen Eingang von mehreren Entladungseinheiten erhält, deren Anzahl aber nicht groß ist (Abb. 26 B). Eine Erhöhung der Stimulusfrequenz oder der Stimulusintensität am psn beschleunigt die Ausprägung des Reflexmusters.

Das Reflexmuster kann aber auch während spontaner gastrischer Aktivität auftreten, wie in Abb. 26 C demonstriert ist. Es kommt dabei ähnlich wie bei der elektrischen Stimulation am psn zu einer erhöhten PD-Aktivität, während gleichzeitig keine Entladung der LP-Neurone mehr zu registrieren ist. Die Entladungsaktivität der PY-Neurone kann auf Grund der allgemeinen starken Entladungsaktivität während eines gastrischen Zyklus nicht eindeutig verfolgt werden. Eine detaillierte Analyse der Entladungsaktivität der PD-Neurone während der psn-Stimulation zeigte, daß die Anzahl der PD-Spikes nur in den ersten Bursts erhöht war und dann trotz weiterer, gleichbleibender Stimulation bei folgenden PD-Bursts auf normale Werte zurückging. Die Ableitungen bestätigen im wesentlichen die Befunde von Dando et al. (1974) und waren Ausgangspunkt für die weiteren Untersuchungen.

Intrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat

Direkte intrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat sollten dazu dienen, die Eingangscharakteristik auf die PD-Schrittmachneurone während der Reflexaktivität zu analysieren. Mit der auf Seite 10 beschriebenen Methode zur intrazellulären in-situ-Ableitung konnten insgesamt sieben PD-Neurone erfolgreich penetriert werden (z.B. Abb. 27 A). Dabei gelang es von fünf PD-Neuronen gleichzeitig bei intakten psn-Reflex intrazellulär abzuleiten. Während elektrischer Stimulation am psn begannen die PD-Neurone zu depolarisieren, wobei entweder ihre Burstfrequenz zunahm oder repetitives Spiken auftrat (Abb. 27 B), gleichzeitig war die LP und PY-Entladungsaktivität blockiert (s. extrazelluläre Spur). Nach

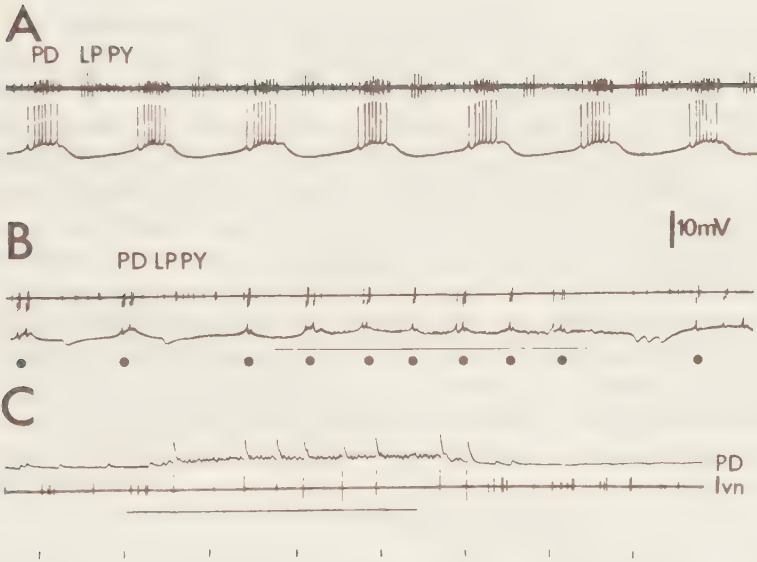


Abb. 27: Intrazelluläre Ableitungen vom in situ Präparat. A - Simultane Ableitung vom lvn (obere Spur, extrazellulär) und von einem PD-Schrittmacherneuron (untere Spur, intrazellulär) während spontaner pylorischer Entladungsaktivität. B - Ableitung wie bei A, aber mit psn-Stimulation. Die Entladungsaktivität der PD-Neurone ist durch große Punkte gekennzeichnet. C - Ableitung vom lvn (untere Spur) und einem PD-Neuron (obere Spur) während psn-Stimulation. Am PD-Neuron sind deutlich EPSP zu beobachten (die großen Potentiale sind Spikes, wie an der lvn-Ableitung zu sehen ist). Ausgezogene Linien unter den Ableitungen B und C deuten die psn-Stimulation an (20 Hz). Zeitmarke Abb. unten: 1 sec.

Beendigung der Stimulation ist die zurückkehrende LP und PY-Aktivität an den extra- und intrazellulären Spuren zu verfolgen. Die Ursache der Depolarisation an den PD-Neuronen während der psn-

Stimulation ist deutlicher an einem PD-Neuron zu verfolgen, bei dem keine spontane Burstaktivität auftrat (Abb. 27 C). Die Grundaktivität dieser Zelle bestand aus unregelmäßigem EPSP-Eingang und spontanen Spikes. Bei psn-Stimulation wurde die EPSP-Eingangsfrequenz auf das 5-10-fache erhöht. Einzelne EPSP's hatten Amplituden von 2 mV und summierten sich zu einer Depolarisation des Membranpotentials von 5-9 mV auf (je nach Stärke der Stimulusintensität), wobei repetitives Feuern der Zelle ausgelöst wurde. Amplituden und Zeitverläufe der EPSP's waren relativ einheitlich. Ihre Latenz betrug 200-300 Millisekunden, sie war bei den verwendeten Stimulusfrequenzen konstant und konnte auch durch extrazelluläre Ableitungen bestätigt werden. Die Summation der EPSP's bis zum Erreichen des depolarisierten Plateaus dauerte 700 - 300 Millisekunden. Nach Beendigung einer Stimulationsperiode war ein Poststimulusplateau für 200 - 300 Millisekunden zu beobachten, das während der nächsten 500 - 700 Millisekunden zum normalen Prästimulusplateau abfiel.

Einzelne Stimulusimpulse am psn reichten nicht aus um den Reflex auszulösen.

Ableitungen vom isolierten Präparat

Falls allein der exzitatorische synaptische Eingang auf die Schrittmacherneurone und deren daraus folgende erhöhte Entladungsaktivität die Ursache des psn-Reflexmusters ist, so sollte sich mit einer intrazellulären depolarisierenden Stromeinprägung in einer der PD-Neurone ein ähnliches Entladungsmuster simulieren lassen. Abb. 28 zeigt eine intrazelluläre Ableitung eines PD-Neurons mit einer

gleichzeitigen extrazellulären Ableitung vom l_{vn}. Durch depolarisierende Stromeinprägung wurde die Burstfrequenz des Schrittmachers erhöht und gleichzeitig war eine vollständige Hemmung der Entladung der LP- sowie der PY-Neurone zu beobachten. Dabei war die Burstfrequenz der PD-Neurone jedoch nicht so hoch, daß sie das PD-LP-Intervall erreichten. Das "Reflexmuster" kann daher nicht alleine durch eine schnelle Entladungsfolge der PD-Neurone erklärt werden. Andere Mechanismen wie etwa Bahnung könnten hier eine Rolle spielen.

Während gleichbleibender Strominjektion trat eine Adaption der Schrittmacherentladung auf, durch die die Interburstintervalle der PD-Neurone sukzessive verlängert wurden. Dabei konnte schließlich das LP-Neuron sogar wieder etwas zur Entladung kommen. Das Intervall dieser PD-LP-Entladung war jedoch wesentlich größer als im normalen Entladungsmuster.

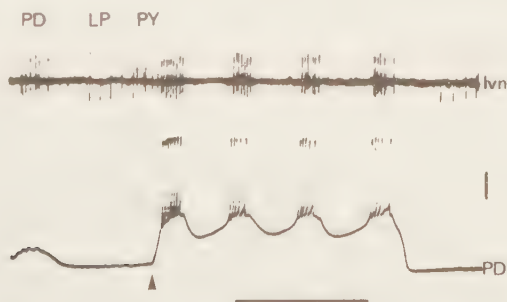


Abb. 28 : Depolarisation eines PD-Neurons durch Stromeinprägung. Extrazelluläre Ableitung vom l_{vn} (obere Spur), intrazelluläre Ableitung von einem PD-Neuron (untere Spur). Die depolarisierenden Potentiale zu Beginn der "PD-Spur" zeigen die elektrotrotonische Kopplung der sich entladenden PD-Neurone (s. extrazelluläre Spur) an. Bei Depolarisation des PD-Neurons wird Burstaktivität ausgelöst und wie auf der l_{vn}-Spur zu beobachten ist, wird gleichzeitig die LP und PY-Entladung unterdrückt. Kalibrierung: 1 sec, 10 mV.

Isolation von Eingangsfasern auf die PD-Schrittmacherneurone

Aus Untersuchungen zur Eingangsorganisation geht hervor, daß vermutlich der größte Teil des von den Kommissurganglien kommenden Eingangs auf die Neurone des pylorischen Zyklus über den son (s.S. 25) läuft. Um spezifische Eingangsfasern auf die PD-Neurone zu separieren, erschien der son Eingangsnerv daher besonders geeignet. Aus einer Vielzahl isolierter Faserbündeln am son gelang es schließlich eines zu finden, bei dessen Stimulation (ab 7 Hz) das "Reflexmuster" auftrat (Abb. 29 B). Dieser Befund unterstützt erstens vor allem die Kommandofaserhypothese an sich und zweitens den vermuteten Reflexweg des Kommandofasereingangs über die CG's.

Graduierung zu verschiedenen pylorischen Ausgangsmustern am isolierten Präparat

Durch entsprechende Stimulation am ganzen son, an dem isolierten son-Faserbündel oder an beiden Stimulusorten gleichzeitig konnten verschiedene pylorische Ausgangsmuster am völlig isolierten StG evoziert werden (Abb. 29). Wenn Stimuli etwa gleicher Intensität (jedoch phasenverschoben, um Spikekollisionen zu vermeiden) zum einen auf den ganzen son und zum anderen auf die isolierten son-Fasern gegeben wurden, war die resultierende Ausgangsaktivität eine "intermittierende Antwort" mit erhöhter PD-Burstentladung und etwas verringerter LP- und PY-Entladungsaktivität (s. initialer Teil Abb. 29 C₁, 29 C₂). Mit abnehmender Stimulusintensität an der einen oder anderen Stimulusstelle konnte diese intermittierende Antwort entweder zu einem Ausgangsmuster mit erhöhter pylorischer Rhythmizität verändert werden (bei abnehmender Stimulusintensität an den isolierten Fasern, Abb. 29 A) oder zu einer Antwort graduert werden, die ähnlich dem "psn-Reflexmuster" war (bei abnehmender Stimulusintensität am ganzen son, Abb. 29 B).



Abb. 29: Veränderung der pylorischen Ausgangsaktivität bei Ableitung vom isolierten Präparat während A, einer Stimulation am ganzen son (PD, LP und PY-Entladungsaktivität ist erhöht) B, der Stimulation eines isolierten Faserbündels vom son (die LP-Entladung und der größte Teil der PY-Entladung wird unverdrückt während die Burstaktivität der PD-Neurone beschleunigt ist) C, einer Stimulation am ganzen son und an den isolierten Faserbündeln, wobei durch Veränderung der Stimulusintensität an der einen oder anderen Stimulusstelle (während jeweils die Stimulation am anderen Stimulusort gleich blieb) die Antworten von einem Ausgangsmuster zum anderen graduiert werden konnten. Die initialen Ableitungen von C₁ und C₂ zeigen eine intermittierende Antwort mit einer reduzierten LP und PY-Aktivität. C₁: abnehmende Stimulusintensität am isolierten Faserbündel (vgl. Entladungsmuster in A) C₂: abnehmende Stimulusintensität am ganzen son (vgl. Entladungsmuster in B). Die Stimulation ist durch kleine Punkte unter den Ableitungen angezeigt (15 Hz). Zeitmarke 1 sec.

Relevanz der evozierenden Ausgangsmodifikation

Die drei pylorischen Ausgangsmuster, wie sie sich während der elektrischen Stimulation am isolierten Präparat, d.h. also am ganzen son, an den separierten son Fasern sowie an diesen beiden Stimulusorten gleichzeitig ergaben, konnten auch bei spontanen stomatogastrischen Ausgangsmodifikationen am in situ Präparat beobachtet werden. So trat das "psn-Reflexmuster" während spontaner gastrischer Aktivität auf, aber auch das intermittierende Muster war dabei häufig zu beobachten. Spontane Beschleunigungen der gesamten pylorischen Rhythmizität waren auszulösen, ohne daß dabei andere Entladungseinheiten auftraten. Eine ähnliche Erhöhung der pylorischen Aktivität konnte bei Experimenten beobachtet werden, bei denen Fischextrakt durch eine Oesophaguskanüle in den Magen injiziert worden war. Diese Beobachtungen unterstützen daher die Anschauung, daß es sich bei den evozierten Ausgangsaktivitäten an den in situ, sowie an den isolierten Präparaten um Entladungsmuster von physiologischer Bedeutung handelt (s. dazu auch Diskussion S.87).

III COMPUTER-SIMULATION DES PYLORISCHEN ENTLADUNGSMUSTERS

Einer der ersten Forscher, der sich mit der Modellierung von neuronalen Netzwerken beschäftigte, war Mc Dougall (1903). Im folgenden haben sich vor allem Sherrington, Reiss, Harmon und Wilson (Zusammenfassungen s. Reiss, 1964; Harmon u. Lewis, 1966) mit Computersimulationen befaßt. Neuere Arbeiten über Computersimulationen einfacher neuronaler Netzwerke stammen von Perkel und Mulloney (1974) und Dagan et al. (1975). Mit solchen Computersimulationen lassen sich Vorstellungen über postulierte Verschaltungsmuster von Neuronen überprüfen. Sie können ferner dazu helfen, herauszufinden, welche Komponenten des Schaltkreises und welche Parameter seiner einzelnen Elemente essentiell für ein bestimmtes Entladungsmuster sind, und was für Auswirkungen bei Veränderung oder dem Ausfall einzelner Elemente oder Parameter auftreten. Der Wert eines Modells steigt dabei mit der Anzahl der zur Verfügung stehenden Daten aus aktuellen Messungen. Damit wird die Zahl der Freiheitsgrade eingeschränkt, die ansonsten fast jedes beliebige Ausgangsmuster zulassen würden.

Der folgende Abschnitt der vorliegenden Arbeit soll einen ersten Ansatz darstellen, das pylorische Ausgangsmuster des StG durch eine Computersimulation zu modellieren.

Das Computerprogramm wurde von P. Balch (St. Andrews, Gatty Marine Laboratory) erarbeitet (Balch et al., 1976, in Vorbereitung). Es können dabei maximal 20 Neurone mit verschiedenen Zellparametern und synaptischen Parametern untereinander verschaltet werden. Für die vorliegende Simulation wurden, sofern vorhanden, aktuelle Zelldaten aus intrazellulären Ableitungen benutzt. Die Computerarbeit wurde im Computerzentrum in St. Andrews mit einem IBM-Computer 360 durchgeführt.

Simulation

Für die Simulation wurden Zelldaten und synaptische Parameter verwendet, die nahezu alle aus einem Experiment stammten (s. Tab. 4, 5).

Für eine erste Simulation wurde ein einfaches Grundmodell des pylorischen Entladungsmusters mit präsumptiven essentiellen neuronalen Elementen und deren synaptischen Verknüpfungen entworfen (Abb. 30 A). In diesem Grundprogramm wurde mit den zur Verfügung stehenden Daten (s. Tab. 4, 5) je ein LP- und PY-Neuron simuliert. Die PD-Schrittmacher-Neurone wurde nicht simuliert, sondern nur ihre Entladungscharakteristik als Trigger für die Entladung der Folge Neurone benützt. Abb. 31 zeigt eine Original-Computergraphik des Entladungsmusters des LP- und PY-Neurons. Trotz des stark vereinfachten Netzwerks ergab sich bei der Computersimulation eine den intrazellulären Ableitungen von diesen Neuronen sehr ähnliche Entladungscharakteristik.

In dieses Basisprogramm wurden dann weitere Modellneurone und entsprechende synaptische Verbindungen eingefügt (Abb. 30 B). In Abb. 32 ist der Computerausdruck eines zweiten, fortgeschrittenen Programms dargestellt. Es zeigt im wesentlichen wieder eine gute Übereinstimmung mit extrazellulären Ableitungen vom lyn. Die Simulationen waren über mehrere Zyklen stabil.

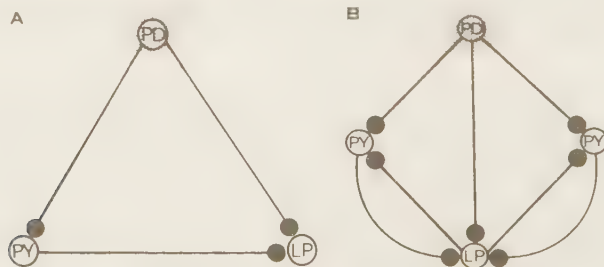


Abb. 30: Simulierte Modelle. A - Grundmodell mit zwei simulierten Neuronen, PY und LP und entsprechendem inhibitorischen synaptischen Eingang (-i). B - Fortgeschrittenes Modell mit drei simulierten Neuronen und entsprechender Verschaltung. Die PD-Neurone selbst wurden nicht simuliert, sondern nur ihre Ausgangsaktivität programmiert.

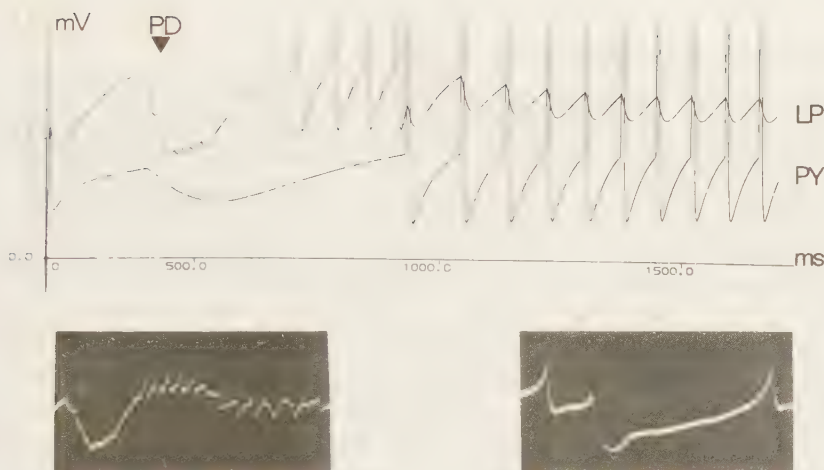


Abb. 31: Computergraphik der Ausgangsaktivität des Modells Abb. 30 A. Im Vergleich dazu intrazelluläre Ableitungen eines LP- und PY-Neurons.

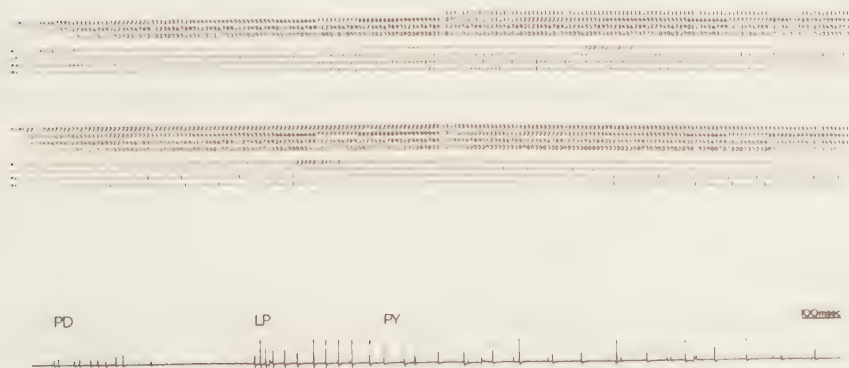


Abb. 32: Computerausdruck der Ausgangsaktivität des Modells Abb. 30 B. Im Vergleich extrazelluläre Ableitung vom dvn.

DISKUSSION UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Das pylorische Netzwerk der Brachyuren (Maynard und Burke, 1966; Maynard und Dando, 1974; Dando et al., 1974; s. diese Arbeit) ist sehr ähnlich dem der Macruren (Maynard, 1972; Maynard und Selverston, 1975). Die Hauptunterschiede sind 1) zwei zusätzliche sog. s-PD-Neurone, sowie 2) eine elektrotroische Kopplung zwischen einigen der PD- und PY-Neurone bei den Brachyuren.

Untersuchungen am Flußkrebs StG (*Astacus leptodactylus*) zeigten (Hermann, unveröffentlicht), daß nur etwa 20 % der isolierten Präparate im Gegensatz zu etwa 90 % der Krabbenpräparate spontan aktiv waren. Es liess sich jedoch kein signifikanter Unterschied in der Entladungseffizienz (Burstamplitude oder Spikes pro Burst sind in beiden Präparaten etwa gleich) der PD-Schrittmachneurone feststellen. Bei Ableitungen von nahezu intakten Tieren hingegen zeigten sich in beiden Präparaten ähnliche rhythmische, pylorische Ausgangsaktivitäten. Möglicherweise spielt daher für die Entladungsaktivität eine unterschiedliche Abhängigkeit vom exzitatorischen ZNS Eingang eine Rolle, der etwa im Falle der Flußkrebsschrittmacher ein gewisses Erregungsniveau für eine rhythmische Entladung schafft. Ein Hinweis darauf ist auch die Beobachtung, daß mit intakten CG's die Spontanaktivität der isolierten Flußkrebspräparate steigt. Im Krabbenganglion könnten aber auch die zwei zusätzlichen s-PD-Neurone für die hohe Spontanaktivität des isolierten Präparats verantwortlich sein.

Rhythmogenese

Für die PD-Neurone im StG konnte eine bisher bereits vermutete endogene Aktivität (Maynard und Selverston, 1975) mit den vorgelegten

Untersuchungen sehr wahrscheinlich gemacht werden. Ein exakter Beweis hierfür fällt jedoch schwer, da die Initiierungszone der endogenen Aktivität nicht im Soma, sondern im Neuropil liegt.

Besonders charakteristisch für die Entladung der PD-Schrittmachneurone ist die Kürze der Entladungsdauer sowie ihre hohe Entladungsfrequenz während eines Bursts (im Gegensatz etwa zur Entladung von Molluskenschrittmacherzellen, Alving, 1968). Nun sind die PD-Neurone, wie gezeigt worden ist, untereinander durch einen sehr effizienten positiven feedback verbunden. Das führte zu der Vermutung, daß die spezifische Entladungscharakteristik der PD-Neurone erst durch eine Überlagerung der endogenen Membranpotentialoszillation jedes einzelnen Neurons, sowie der elektronischen Wechselwirkung der Neurone untereinander zustande kommt. Tatsächlich läßt sich bei der Entladung nur eines einzelnen PD-Neurons eine geringe Verlangsamung des Burstablaufs feststellen (s. Abb. 9 A, B). Trotzdem unterscheidet sich auch der einzelne PD-Burst in seinem Verlauf von einigen hundert Millisekunden wesentlich von einer Entladung der Schrittmacherzellen bei Mollusken mit einer Dauer von einigen Sekunden. Die elektrotonische Kopplung alleine kann daher für den schnellen Ablauf der PD-Bursts nicht verantwortlich sein, vielmehr ist dies vermutlich den endogenen Entladungseigenschaften dieser Schrittmachneurone zuzuschreiben.

Auf Grund der zentralen Stellung, die solche autoaktiven Neurone zumindest bei Invertebraten wahrscheinlich für viele neuronale Aktivitäten einnehmen (bei Vertebraten konnten sie bisher nicht nachgewiesen werden), ist die Erforschung des Mechanismus dieser endogenen Entladungsaktivität von besonderem Interesse. Dudel und Trautwein (1953) haben für die Herzschrittmacheraktivität einen ionalen Mechanismus beschrieben, der die langsame Membrandepolari-

sation durch eine hohe Ruheleitfähigkeit der Membran für Na^+ -Ionen erklärt. Für die Termination der Entladung wurde eine Zunahme der K^+ - Leitfähigkeit angenommen. Ein ähnlicher Mechanismus wurde seither häufig auch für die neuronale Schrittmacheraktivität gefordert (z.B.: Junge und Stephens, 1973; Barker und Gainer 1975). Neuerdings gibt es Befunde von Lux und Eckert (1974) und Eckert und Lux (1975, 1976) aus Voltage-Clamp-Experimenten, daß die langsame Membrandepolarisation durch einen Einwärtsstrom von Ca^{2+} -Ionen getragen wird. Durch eine Konzentrationserhöhung von Ca^{2+} im Zellinneren wird vermutlich im folgenden eine erhöhte K^+ -Leitfähigkeit ausgelöst (Meech und Standen, 1975).

Systematische Untersuchungen zum Mechanismus der endogenen Aktivität der PD-Neurone wurden bisher nicht durchgeführt. Aus Experimenten bei denen die Ionenzusammensetzung des externalen Ringermilieus verändert worden war, ergaben sich aber einige Hinweise auf einen Na^+/K^+ -Mechanismus. So zeigte sich in Ca^{2+} -freiem Ringer, daß sich die Entladungsaktivität nur sehr langsam im Verlauf von Minuten ändert und daher vermutlich eher mit einer allgemeinen Störung der membranalen Integrität zu erklären ist, während eine Reduktion der Na^+ -Ionen im Ringerbad von über 50 % eine starke Verkleinerung des Schrittmacherpotentials zur Folge hatte. Weitere detailliertere Untersuchungen zum ionalen Mechanismus der Schrittmacheraktivität an den PD-Neuronen etwa mittels einer Spannungs-klemme (Voltage-Clamp) erscheinen jedoch problematisch, da im Soma die aktiven Membranprozesse nur passiv wiedergespiegelt werden. Die sich distal vom Soma abspielenden aktiven Membranteile können daher vermutlich nur teilweise, wenn überhaupt unter isopotentiometrische Bedingungen gebracht werden. Hinweise auf eine distale Lokalisation der aktiven Zonen vom Ableitort im Soma sind die geringen Spikeamplituden, oder auch, daß keine anomale Gleichrichtung der Somamembran festzustellen war, während jedoch die Veränderungen der

EPSP-Parameter bei Somahyperpolarisation (s. Abb. 16, 17) auf eine solche Anomalie der Membranleitfähigkeit im Axon oder Kollateralenbereich hinweisen.

Elektrotonische Synapsen

Am häufigsten sind elektrotonische Synapsen bei Invertebraten (z.B. Furshpan und Potter, 1959; Eckert 1963; Bennett, 1966) und bei niederen Vertebraten (z.B. Auerbach und Bennett, 1969; Korn und Bennett, 1975) nachgewiesen. Sie werden in zunehmendem Maße aber auch im Zentralnervensystem der Säuger gefunden (Baker und Ilinas, 1971; Korn et al. 1973; Ilinas et al., 1974). Elektronenmikroskopische Untersuchungen solcher elektrischer Synapsen zeigten, daß das morphologische Korrelat vermutlich sog. "gap-junctions" (Revel und Karnovsky, 1967) sind, die winzige Protoplasmabrücken zwischen prä- und postsynaptischen Membranen ausbilden. Diese Vorstellung stimmt auch überein mit Befunden, daß biogenes Material, wie Aminosäuren oder Nukleoside solche Kopplungsstellen sehr leicht transferieren können (Globus et al. 1973; Hermann et al., 1975; Hermann und Rieske, 1975). Möglicherweise ist damit eine metabolische Interaktion verbunden, die zu einer metabolischen und damit auch physiologischen Gleichschaltung (z.B. ähnliche Erregbarkeit) führen könnte.

Die beobachtete elektrotonische Kopplung im stomatogastrischen Ganglion findet sehr wahrscheinlich zwischen den Zellfortsätzen im Neuropil statt. So fand man bei elektronenmikroskopischen Aufnahmen des Neuropils bei Homarus sehr nahe Membranappositionen von kleinen Fasern (E. Maynard, 1971). Somata, die mit Procion-vellow injiziert worden waren (Maynard, 1972; Selverston, 1973) zeigten hingegen nie irgendwelche Kontaktstellen. Gap-junctions wurden al-

lerdings bisher nicht gefunden.

Bei einer direkten Messung der elektrotonischen Kopplungsstärke der PD-Schrittmacher wurde der Abschwächungsfaktor zwischen den m-PD-Neuronen mit 3-5 bestimmt. Damit wird im allgemeinen eine relativ starke Kopplung angezeigt. Dagegen ist der Abschwächungsfaktor für Aktionspotentiale wesentlich größer, er liegt bei 10-20. Diese starke Abschwächung bei den Aktionspotentialen läßt sich damit erklären, daß für die kurzen Spikes die Kapazität eines "Kol-lateralen Kabels" wirksam wird, während sie für langsame Potentiale unwirksam bleibt. Für längere, langsame Potentiale ist also die elektrotonische Übertragung effizienter. Daher wird auch die langsame endogene Membranpotentialoszillation der Schrittmacher relativ gut übertragen. Wie sich die elektrotonische Wechselwirkung jedoch tatsächlich zwischen den neuronalen Integrationszonen auswirkt, läßt sich hingegen nicht einfach bestimmen. Es ist anzunehmen, daß die Kabeleinflüsse hierbei etwas geringer sind, da die Spike- oder Burstinisierungszone im Neuropil vermutlich näher beieinander liegen als die Somata, von denen die Ableitungen gemacht wurden.

Die Effizienz einer elektrotonischen Kopplung kann auch temporär verändert werden. Spira und Bennett (1972) beschrieben einen Mechanismus, bei dem durch exzitatorischen synaptischen Eingang auf elektrisch gekoppelte Neurone im Buccalganglion der Meeresschnecke *Hydrobia ulvae*, der Kopplungskoeffizient reduziert wird. Auch bei den PD-Schrittmachern im StG war eine partielle Entkopplung der Entladung während eines Bursts festzustellen, die aber nicht auf exzitatorischen Eingang zurückzuführen ist. Innerhalb eines Aktivitätszyklus einer Schrittmacherzelle konnten aber Veränderungen im Membranwiderstand festgestellt werden (s. Abb. 12 B und vgl. auch Molluskenschrittmacher, Junge und Stephens, 1973), und zwar ist er während der Burstnachhyperpolarisation niedriger als in der da-

rauffolgenden Interburstphase. Diese Erhöhung der Membranleitfähigkeit scheint sich während der Depolarisationsphase eines Bursts zu entwickeln. Hinweise darauf sind: reduzierte hyperpolarisierende Pulse und EPSP-Amplituden während eines Bursts. Legt man das Schaltbild der elektrotrotonischen Synapse nach Furshpan und Potter zugrunde (Abb. 33), so gilt für die Berechnung des Kopplungskoeffizienten

(K):

$$K_{PD1/PD2} = \frac{V_1}{V_2} = \frac{r_{PD2}}{r_{PD2} + r_J}$$

(V_1 und V_2 sind die resultierenden Potentiale in den beiden Zellen; r_{PD1} und r_{PD2} sind die Membranwiderstände; r_J ist der Membranwiderstand an der Kopplungsstelle)

Damit läßt sich die Reduktion des Kopplungskoeffizienten bei einer Abnahme der Membranwiderstände r_{PD1} und r_{PD2} erklären. Eine erhöhte Membranleitfähigkeit führt so vermutlich zu einem partiellen Kurzschluß des Stroms (während der Burstdepolarisation), der ansonsten über die Membran an der Kopplungsstelle geflossen wäre.

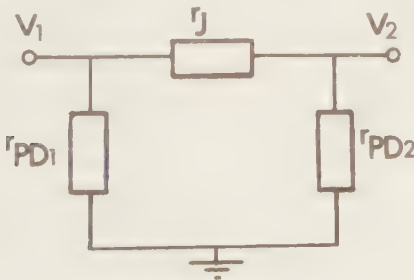


Abb. 33: Schaltbild der elektrotrotonischen Kopplung (nach Furshpan und Potter, 1959).

Aus dieser Entkopplung, die hier vermutlich im Zusammenhang mit einer endogenen Veränderung der Membrankonduktivität steht, könnte sich schließlich das charakteristische Entladungsmuster der PD-Neurone mit einer sukzessiven Verzögerung der Spikeentladung entwickeln (s. Abb. 18 A).

Die Eigenschaften der StG-Neurone

Die Motoneurone des StG lassen sich vor allem auf Grund funktioneller Kriterien klassifizieren. Die Verteilung ihrer Somata zu katalogisieren, wie das für zentrale Mollusken und Arthropodenganglien möglich ist, erscheint nur von beschränkter Nützlichkeit für das hier untersuchte Präparat, da die Lage der Zellkörper im Ganglion variiert. Es waren jedoch charakteristische Unterschiede in der Somagröße für einzelne Zelltypen festzustellen (s. Tab. 2). Die Suche nach einem bestimmten Zelltyp war dadurch erleichtert. Auch die Amplituden extrazellulär abgeleiteter Potentiale korrelieren in etwa mit dem Somadurchmesser.

Von den Somata der StG-Neurone sind sowohl Aktions- als auch synaptische Potentiale abzuleiten und damit neuronale Interaktionen leicht zu verfolgen. Die Amplituden der Aktionspotentiale können auch beim gleichen Zelltyp stark variieren, z.B. bei PD-Neuronen von 10 bis 30 mV. Ein "overshoot" der Aktionspotentiale war jedoch nie zu beobachten. Für die PY-Neurone ist die Variation der Spikeamplituden besonders groß, auch die Somadurchmesser schwanken stark. Es handelt sich aber hier vermutlich auch um keine einheitliche Gruppe von Neuronen (vgl. Maynard und Selverston, 1975); eine nähere Untersuchung wurde jedoch nicht vorgenommen. Ein Vergleich dieser Zellen bei verschiedenen Präparaten ist daher nicht möglich, die Zellparameter wurden aus diesem Grunde nur in unteren und oberen Grenzen angegeben.

Der synaptische Eingang

Elektronenoptische Untersuchungen von E. Maynard (1971) am StG des Hummers zeigten, daß synaptische Kontakte ausschließlich im Neuropil auftreten. Auch die vorgelegten elektrophysiologischen Ableitungen am Krabben-StG weisen auf einen vom Ableitort im Zellsoma distalen synaptischen Eingang hin. So sind die Abfallgeschwindigkeiten synaptischer Potentiale relativ langsam im Vergleich zu den Membranzeitkonstanten der Neurone (s. Tab. 3). Auch die intraganglionäre synaptische Verzögerung ist lang, und die Umkehrpotentiale der IPSP's sind relativ wenig spannungsabhängig; sie liegen etwa bei 20 mV negativ vom Membranruhepotential. Die Rolle eines Kabelsegments zwischen synaptischem Eingangsort und Soma, oder auch die Funktion des Somas selbst bei den Integrationsvorgängen ist unklar. Eine integrative Funktion wird z.B. jedoch einem "Kabelabschnitt" zwischen dem synaptischen Eingangsort (Dendriten, Kollaterales) und der Integrationszone (Spike- oder etwa auch Burstinitiationszone) eines Neurons zugeschrieben (Rall, 1967; Jack und Redman, 1971). Ein großer elektrotonischer Abstand (L)* der Synapsen von den Integrationszonen würde auf Grund eines verlangsamten Abfalls der synaptischen Potentiale deren Summation begünstigen. Differierende Abfallzeiten könnten aber auch unterschiedliche synaptische Verzögerungen hervorrufen und damit wichtig für eine sequentielle Entladungsabfolge in einem neuronalen Programm sein (s.S 75).

* Der elektrotonische Abstand (L) ist definiert als die räumliche Entfernung (x) in Einheiten der Längskonstanten (λ) : $L = x/\lambda$ (s. Rall, 1970).

Veränderungen der EPSP-Parameter (Amplitude, Abfallgeschwindigkeit) bei einer Hyperpolarisation im Soma lassen vermuten, daß in den distalen Axon- oder Kollateralenmembranen anomale Gleichrichtung auftritt. Dazu kommt bei den Schrittmacherneuronen noch eine Überlagerung durch endogene Membranpermeabilitätsveränderungen während eines Entladungszyklus, die somit ebenfalls auf die peripheren synaptischen Einflüsse einwirken.

Eine klarere Vorstellung über die synaptische Transmission kann aber erst dann entwickelt werden, wenn die Morphologie der Kollateralen besser untersucht ist. Ein elektrophysiologischer Beitrag dazu wären direkte Ableitungen im Axon- oder Kollateralenbereich. Trotz der sicherlich schwierigen Ableitbedingungen auf Grund der dünnen Faserdurchmesser im Neuropil wird eine systematische Untersuchung doch als durchführbar erachtet und bei einigen Ableitversuchen wurden bereits auch Erfolge erzielt (eigene Untersuchungen, unveröffentlicht; Selverston, persönl. Mittlmg.) Solcherlei erhaltene elektrophysiologische Daten kombiniert mit morphologischen Untersuchungen (vgl. Lux et al., 1970, 1975; Barrett, 1973) würden den Ansatz für eine detaillierte quantitative Fassung der Integrationsabläufe in diesem System möglich machen.

Nicht berücksichtigt wurde bisher eine mögliche Beteiligung humoraler Einflüsse an der Steuerung der stomatogastrischen Ausgangsaktivität. Tatsächlich gibt es dazu einen morphologischen Hinweis am stomatogastrischen System von *Homarus americanus* und zwar durch das granuläre Material, das von E. Maynard (1971) in Eingangsfasern zum StG gefunden wurde. Eigene Beobachtungen von Langzeitveränderungen der pylorischen Ausgangsaktivität (bis zu 20 Minuten) nach der Termination einer Stimulation (Hermann, unveröffentlicht) lassen sich möglicherweise ebenfalls mit einem solchen neuro-humoralen Effekt erklären. Interessant erscheint in diesem Zusammen-

hang auch eine unterschiedliche Postexzitation nach einer Stimulation am ganzen son oder an isolierten son-Eingangsfasern. So war nach einer Stimulation an den separierten Faserbündeln eine Poststimuluserregung des pylorischen Ausgangs festzustellen, die über einige Minuten anhalten konnte. Nach einer Reizung am ganzen son hingegen, bei der alle Eingangsfasern erregt wurden, war eine Poststimulusermüdung ("fatigue") zu beobachten. Da extraganglionärer, inhibitorischer, synaptischer Eingang bei den untersuchten Neuronen dafür nicht in Frage kommt (s. S. 37), könnte eine solche hemmende Nachwirkung als Folge eines neurohumoralen Eingangs interpretiert werden. Ähnliches läßt sich für die Beobachtung einer spontanen temporären Verlangsamung der pylorischen Entladungsaktivität am isolierten Präparat bei intakten Kommissurganglien, oder am in situ Präparat annehmen.

Die Entladungsfolge der LP-PY-Neurone

Eine geringe Verzögerung in der Entladung der Folge Neurone und ihre reziproke Inhibition würde genügen, um ihre Entladungsabfolge im pylorischen Muster zu erklären. Kommt nämlich das LP-Neuron nach der Hemmung durch die PD-Neurone zuerst zur Entladung, so wird auf Grund der hemmenden Verschaltung zu den PY-Neuronen deren Entladung verhindert. Entladen sich schließlich die PY-Neurone (durch Akkomodation oder "fatigue" des LP-Neurons; Mechanismus der reziproken Hemmung, s. Wilson, 1966), so wird die Entladung des LP-Neurons gehemmt. Es bleibt die Frage nach dem Mechanismus dieser Verzögerung an den PY-Neuronen. Dazu ergaben sich einige Hinweise aus Beobachtungen und Experimenten, die im weiteren hier diskutiert werden sollen:

1. Vergleicht man synaptische Parameter der Inhibition von den PD-Neuronen auf LP und PY-Neurone, so kann man feststellen, daß die

IPSP's an den PY-Neuronen im allgemeinen längere Latenzen haben und auch die Kinetiken der synaptischen Potentiale langsamer sind als das für IPSP's an LP-Neuronen der Fall ist (s. Tab. 3). Eine mögliche Erklärung hierfür wäre ein distalerer synaptischer Eingang an den PY-Neuronen. Auch unterschiedliche "Kabeldurchmesser" könnten für eine unterschiedliche Verzögerung mit einer Rolle spielen. Die kleine Somagröße der PY-Neurone und damit eventuell korreliert eine geringe Axon- oder Kollateralenfaserdicke könnten ein morphologisches Korrelat hierfür sein. Auch die geringen Amplituden der extrazellulär abgeleiteten PY-Potentiale ließen sich damit erklären. Ungewöhnlich lange Latenzen, Anstiegs- und Abfallgeschwindigkeit der synaptischen Hemmpotentiale an PY-Neuronen waren auch Maynard und Walton (1975) am Hummerpräparat aufgefallen. Ein hypothetisches Kabelmodell einer LP-PY-Verzögerung ist in Abb. 34 illustriert.

2. Für einige PD-PY-Interaktionen gibt es Befunde, nach denen ein synaptischer Integrationsmechanismus die Ursache für eine Verzögerung an diesen PY-Neuronen ist. Ausgangspunkt der Untersuchungen hierfür war die Beobachtung eines biphasischen Potentialverlaufes bei einigen PY-Neuronen. Ähnliche Beobachtungen waren von Maynard (1974) an PY-Neuronen bei Panulirus gemacht, aber nicht weiter analysiert worden. Die nähere Untersuchung dieses Phänomens im Verlauf dieser Arbeit zeigte, daß es sich bei diesem biphasischen Potentialverlauf an den PY-Neuronen um eine Überlagerung zweier verschiedener synaptischer Einflüsse handelt, und zwar um eine Inhibition ausgehend von den PD-Neuronen und um einen gleichzeitig übertragenen elektrotonischen Potentialverlauf, der ebenfalls von den PD-Neuronen stammt. Nimmt man an, daß die Hemmung am PY-Neuron ohne Überlagerung des elektrotonischen Potentials etwa dem Hemmverlauf am LP-Neuron entspricht, so kann aus den abgeleiteten unterschiedlichen Potentialverläufen am LP und PY-Neuron ein resultierendes Potential

ermittelt werden, das relativ gut mit einem elektrotonisch übertragenen Burstpotehtialverlauf der PD-Neurone übereinstimmt (Abb. 35 A). Auch die Kontrolle, eine Überlagerung des elektrotonischen Potehtialverlaufs (der nach der Blockierung der Hemmung am PY-Neuron zu erhalten war) mit einem Hemmverlauf, entsprechend dem des LP-Hemmpotehtials, ergab etwa den zu beobachtenden Potehtialverlauf am PY-Neuron (Abb. 35 B). Wichtig für die Verzögerung der Entladungsaktivität der PY-Neurone ist aber nicht etwa die elektrotonisch übertragene Depolarisation des PD-Burstpotehtials, sondern die ebenfalls übertragene Nachhyperpolarisation der Burstentladung. Dieser Verzögerungsmechanismus trifft vermutlich aber nur für einige wenige PD-PY-Interaktionen zu. Ein solcher Mechanismus würde aber vor allem dann effektiv, wenn die PY-Neurone untereinander elektrotonisch gekoppelt wären. Für eine solche elektrotonische Kopplung spricht eine oft zu beobachtende simultane Entladungscharakteristik der PY-Neurone. Aus diesem Grunde war bereits von Maynard (1972) eine solche Kopplung angenommen worden. Von Selverston (1975) konnte eine solche PY-PY-Interaktion allerdings nicht festgestellt werden. Hier ist jedoch anzumerken, daß mit der verwendeten elektrophysiologischen Methode negative Befunde über eine elektrotonische Kopplung sehr vorsichtig interpretiert werden müssen. Die Kopplungsstelle könnte nämlich so weit vom Soma entfernt liegen, daß ein im Soma applizierter Spannungspuls durch das elektrotonische Dekrement und/oder einen niedrigen Kopplungskoeffizienten so stark abgeschwächt wird, daß von einem elektrotonisch gekoppelten Neuron bei Ableitung vom Soma keine Potehtialveränderung mehr zu registrieren ist. Trotzdem könnte die elektrotonische Kopplung bei normaler Interaktion wirksam sein, da die elektrotonische Entfernung zwischen den Integrationszonen und den Synapsen im Neuropil vermutlich geringer ist als zwischen den Somata. Elektrotonische Synapsen sind auch sehr empfindlich gegenüber Verletzungen (verursacht etwa bei der Penetration), wodurch es zur Entkopplung kommen kann (Hermann u. Rieske, 1975).

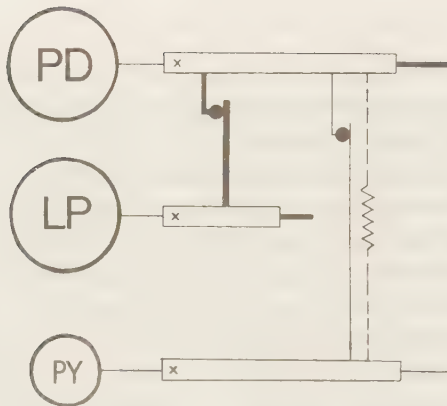


Abb. 34: Modell der PD-PY-Interaktion. x: Integrationszonen der Neurone; ●: hemmende Synapsen mit Kollateralen; $\sim$: elektrotonische Synapse.

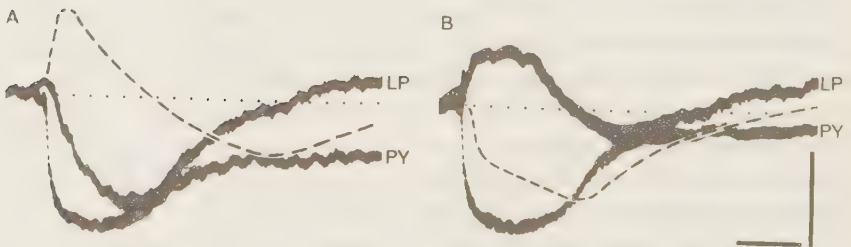


Abb. 35: Superposition der Inhibition und des elektrotonisch übertragenen Potentialverlaufs vom PD-Neuron an einem PY-Neuron. A - Ermittelter elektrotonisch Übertragener Potentialverlauf vom PD-Neuron (gestrichelte Linie) aus den unterschiedlichen Hemmverläufen am LP- und PY-Neuron. B - Überlagerung des nach Perfusion mit Ca^{2+} -freien-Ringer erhaltenen Potentialverlaufs am PY-Neuron mit dem Hemmverlauf am LP-Neuron. Daraus lässt sich ein Kurvenverlauf konstruieren (gestrichelte Linie), der dem Hemmverlauf am PY-Neuron (in A) gleicht.

Zusammenfassend führen die vorliegenden Befunde daher zu der Hypothese, daß der Entladungsfolge der LP- und PY-Neurone keine unterschiedlichen Hemmmechanismen oder synaptische Parameter zugrunde liegen, sondern, daß vielmehr unterschiedliche Kabelparameter und/oder eine Interferenz unterschiedlicher Synapsentypen dafür in Frage kommen.

Der Entladungsmodus der Folgeneurone LP und PY

Bisher ist die Frage noch völlig offen, wie es zur Entladung der Folgeneurone nach ihrer Hemmung durch die PD-Schrittmacherneurone kommt. Exzitatorischer, extraganglionärer synaptischer Eingang kann für die LP- und PY-Entladung ausgeschlossen werden, wie eine weitere normale Entladungsaktivität nach völliger Deafferenzierung des StG zeigte. Auch intraganglionärer, exzitatorischer Eingang ist hierfür sehr unwahrscheinlich, da keine derartigen synaptischen Verbindungen dieser Neurone festzustellen waren (vgl. auch Maynard und Selverston, 1975). Es ist daher anzunehmen, daß intrinsische Eigenschaften der Neurone selbst für ihre postinhibitorische Entladungsaktivität in Frage kommen. Dazu ergaben sich aus vorliegenden Untersuchungen einige Hinweise: So zeigt sich, daß nach einer Zerstörung der PD-Schrittmacher die rhythmische pylorische Aktivität zwar aufhört, die Folgeneurone sich aber trotzdem noch unregelmäßig weiter entladen. Des weiteren war nach einer Blockierung der Inhibition eine erhöhte spontane, repetitive Entladung der Folgeneurone festzustellen.

Ein anderer Entladungsmechanismus, der für die Entladung der Folgeneurone auch in Frage käme, wäre "postinhibitorischer rebound" (PIR) (Terzuolo und Washizu, 1962). Ein Hinweis darauf ist der häufig zu

beobachtende Entladungsmodus der Folgeneurone, mit einer erhöhten Entladungsfrequenz kurz nach einer Hemmung, die im folgenden dann abnimmt (s. Abb. 7). Ein solcher Effekt wird allerdings auch oft als Beschädigungsartefakt eines Neurons erklärt (s. Burkhardt, 1971). Am untersuchten Präparat läßt sich das PIR-Entladungsmuster aber auch bei extrazellulärer Ableitung vom in situ Präparat beobachten, d.h. ein Artefakt ist hier nicht anzunehmen. PIR tritt allerdings nicht immer auf. Für die Entstehung des pylorischen Musters ist PIR daher vermutlich nicht essentiell. Einen interessanten Beitrag um die Diskussion des PIR haben kürzlich Perkel und Mulloney (1974) mit einem Computermodell geliefert, in dem sie zeigen konnten, daß sich mit PIR zeitlich stabile und gegen Störungen wenig anfällige Entladungsmuster reziprok-hemmend verschaltener Neurone entwickeln lassen.

Die Modifikation des pylorischen Entladungsmusters

Durch einen einzigen Stimulus auf ein Interneuron (medianes oder laterales Riesenaxon) kann der Fluchtreflex bei Crustazeen ausgelöst werden (Atwood und Wiersma, 1967). Verschiedene andere Antworten werden nur bei repetitiver Reizung einzelner (Wiersma, 1952) oder mehrerer (Wiersma und Ikeda, 1964) Kommandofasern ausgelöst. Auch der psn-Reflex wird vermutlich über solche Kommandofasern gesteuert (Dando et al., 1974). Diese Anschauung ließ sich vor allem durch folgende Befunde unterstützen: 1) Ableitungen vom sgn während einer Stimulation am psn zeigten, daß dabei nur einige wenige zusätzliche Entladungseinheiten auftreten, die mit Veränderungen im pylorischen Ausgangsmuster einhergehen; 2) Vom son konnten Faserbündel separiert werden, bei deren Stimulation das "Reflexmuster" zu evozieren war.

Das "psn-Reflexmuster" läßt sich erst nach repetitiver Stimulation (15-20 Hz) auslösen. Einzelne Stimuli am psn, auch bei höherer Stimulusstärke als während repetitiver Reizung rufen keine signifikanten Änderungen am pylorischen Ausgangsmuster hervor. Das läßt sich damit interpretieren, daß zentrale Neurone erst Erregung summieren müssen, bevor sie aktiv werden. Ebenso lassen sich damit die beobachteten langen Latenzen und der langsame Anstieg des exzitatorischen Eingangs an den PD-Neuronen während einer psn-Stimulation erklären.

Bei direkter Stimulation von separierten Kommandofasern vom son genügte bereits eine niedrige Stimulationsfrequenz von 7-10 Hz um das Reflexmuster zu evozieren. Die notwendige höhere Stimulationsfrequenz am psn ist daher nicht etwa einer hohen Aktivierungsschwelle der Kommandofasern zuzuschreiben (vgl. Kennedy et al., 1969), sondern vielmehr den integrativen Eigenschaften des ZNS.

Verschaltung des Reflex-Eingangs

Der kürzeste Reflexweg vom psn zum StG ist der über die CG's und die stomatogastrischen Nerven (s. Abb. 5). Ein anderer Reflexablauf wäre allerdings auch über die CG's, das SOG und über den lvn zum StG denkbar. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß eine Umschaltung der sensorischen Exzitation bei einer psn-Stimulation auf Interneurone vorliegen muß. Anhaltspunkte dafür sind: 1) ein für mehrere hundert Millisekunden andauernder EPSP-Eingang nach der Termination einer psn-Stimulation (eine Poststimulusexzitation der posterioren Magenrezeptoren ist dabei auszuschließen, da die psn durchtrennt waren) und 2) läßt sich keine direkte Beziehung zwischen einem Stimulus am psn und einer EPSP-Antwort an den PD-Neuronen feststellen.

Die CG's werden im allgemeinen als die Hauptintegrationszentren der digestiven Koordination angesehen, da ein großer Teil der Sinnesorgane des anterioren Verdauungstraktes und der Mundwerkzeuge dort endet (Orlov, 1926 a, b; Maynard und Dando, 1974). Da auch die psn hier terminieren, läßt sich vermuten, daß diese Ganglien die Transformationsorte des psn-Eingangs sind. Dafür sprechen schließlich auch indirekt die isolierten Kommandofasern vom son. Kurz zusammengefasst läßt sich daher folgender Reflexweg postulieren: Eine Erregung sensorischer Fasern durch Stimulation am psn wird in den CG's auf Befehlsinterneurone umgeschaltet, deren Fasern über den son und sgn schließlich den spezifischen, exzitatorischen Eingang auf die motorischen PD-Schrittmacherneurone im StG liefern.

Mechanismus der Kommandofaserwirkung

Die Ergebnisse bei Ableitungen vom in situ, sowie vom isolierten Präparat bestätigen die Hypothese von Dando et al. (1974), daß während der psn-Stimulation nur die PD-Neurone exzitatorischen Eingang erhalten und damit ihre Burstentladungsfrequenz beschleunigt wird. Inhibitorischer, extraganglionärer Eingang konnte bei keinem der untersuchten Präparate beobachtet werden. Trotzdem ist er nicht völlig auszuschließen, da ein extrem distaler synaptischer Eingang bei Ableitung vom Zellsoma möglicherweise nicht festzustellen war. Die vorgelegten Befunde sprechen jedoch mehr dafür, daß die indirekte Hemmung der PD-Neurone auf die LP- und PY-Neurone größer wird. Eine mögliche Ursache hierfür wäre die Erhöhung der Spikezahl pro PD-Burst. Wie sich jedoch zeigte, trifft das nur für die ersten Bursts während einer psn-Stimulation zu und nimmt während andauern-der Reflexaktivität wieder auf normale Werte ab. Eine andere Er-

klärung für die Entstehung des Reflexmusters wäre, daß das Burst-interval der PD-Neurone das PD-LP-Entladungsintervall erreicht und eine Entladung der Folge Neurone dadurch verhindert wird, daß zuvor bereits ein nächster PD-Burst einsetzt. Ein solcher Mechanismus könnte tatsächlich für die LP-Aktivität zutreffen, die spät in der Entladungsfolge auftritt. Es war jedoch nie zu beobachten, daß die PD-Burstfrequenz während des Reflexes die PD-LP-Intervallsequenz erreicht oder unterschreitet. Damit wäre die vollständige Hemmung der LP-Entladung also nicht zu erklären. Als Mechanismus der an der Ausbildung des Reflexmusters beteiligt ist, wird vielmehr eine Facilisierung der Inhibition an den Folge neuronen angenommen. Dafür spricht auch die zunehmend stärkere Hemmung der Folge neurone im Verlauf der Reflexaktivierung. Noch eine andere interessante Erklärung bietet sich aus einer Hypothese von Maynard und Walton (1975) zur Interaktion stomatogastrischer Neurone. Sie fanden nämlich Hinweise dafür, daß durch eine unterschwellige Depolarisation präsynaptischer Terminale inhibitorischer Transmitter freigesetzt wird. So könnte etwa auch bei der Depolarisation der PD-Neurone durch den exzitatorischen Kommandofasereingang zusätzliche Überträgersubstanz zu dem durch die Aktionspotentiale ausgeschütteten Transmitter freigesetzt werden und so zu einer zunehmend stärkeren Hemmung der Folge neurone führen.

Während längerer depolarisierender Strominjektion zeigte sich ein deutlicher Erregungsabfall der PD-Burstentladung, wobei die Burstintervalle zunehmend größer wurden und schließlich sogar wieder etwas LP-Aktivität zurückkehren konnte. Das PD-LP-Intervall blieb jedoch größer als normal. Es ist daher anzunehmen, daß es während des Reflexablaufs an den PD-Neuronen zu einer Überlagerung eines anfänglich zunehmenden exzitatorischen Eingangs und einer Adaptation

der Burstaktivität kommt. Die resultierende Reflexaktivität ergibt sich somit vermutlich aus einem Gleichgewicht zwischen der Adaption der Burstentladung und einer Bahnung der Hemmung am LP-Neuron.

Der Eingang von den posterioren Magenrezeptoren ist nicht die einzige Ursache für die "Reflexmodifikation", das "Reflexmuster" kann nämlich auch nach durchtrennten psn erhalten werden. Das zeigt, daß auch andere sensorische Einflüsse oder zentrale Mechanismen das Reflexmuster evozieren können. Aus den hier dargestellten Untersuchungen geht jedenfalls hervor, daß jede Erregung der Schrittmacher alleine das "Reflexmuster" auszulösen vermag.

Graduierung des pylorischen Ausgangsmusters am isolierten Präparat

Das spontane, pylorische Ausgangsmuster des isolierten Krabbenpräparats (ohne CG und OeG) zeigt eine relativ konstante, regelmäßige Entladung. Bei Stimulation am ganzen son wird die zyklische Entladung beschleunigt, das Muster jedoch nicht wesentlich qualitativ verändert. Interessanterweise gleicht dieses Entladungsmuster dem Verhalten während einer direkten Injektion von Fischextrakt in den Magen. Für die resultierenden Entladungsmuster kann man daher auf ähnliche Mechanismen wie bei einer Stimulation am ganzen son schließen, nämlich den eines exzitatorischen Eingangs auf alle pylorischen Neurone.

Eine Stimulation an isolierten son Fasern hingegen bringt eine Veränderung des Ausgangsmusters hervor, die dem während der psn Stimulation gleicht.

Stimuliert man am ganzen son und an den isolierten son Fasern gleichzeitig, so erhält man eine intermittierende Antwort, die etwa zwischen den beiden Einzelantworten liegt. Durch Veränderung der Stimulusintensität an einem der beiden Stimulusorte am son, während die andere konstant gehalten wurde, konnten so am völlig isolierten Präparat verschiedene Ausgangsmuster evoziert werden. Ähnliche Modifikationen des pylorischen Ausgangsmusters wurden auch bei Ableitungen vom intakten Tierpräparat beobachtet. Eine solche Übereinstimmung experimentell erzeugten und spontanen Ausgangs zeigt, daß die evozierten Entladungsmuster tatsächlich für das Tier relevant sein könnten. Vor allem wird aus den Untersuchungen aber deutlich, daß das StG nicht nur eine einfache Relaisstation darstellt, sondern auch auf der Ebene der Motoneurone eine Reihe integrativer Operationen durchgeführt werden können.

Zur Funktion des spontanen pylorischen Entladungsmusters

Die sequentielle Entladung der verschiedenen motorischen Einheiten im pylorischen Entladungsmuster führt zuerst zu einer Öffnung des Pylorus, um ihn dann in einer caudal gerichteten Kontraktionswelle wieder zu schließen (Selverston, 1974; Hartline und Maynard, 1975; eigene Beobachtungen). Dabei wird die Dilation der pylorischen Region durch die Kontraktion der von den PD-Neuronen innervierten extrinsischen Muskulatur bewirkt. Dadurch kann die in der Cardia vorverarbeitete Nahrung in den Filterapparat befördert werden (s. Pfeil Abb. 36 B). Durch Kontraktion der antagonistischen, intrinsischen Konstriktormuskulatur, die im wesentlichen vom LP-Neuron innerviert wird, kommt es im Zusammenspiel mit der Kardiopylorikal-klappe wieder zum Verschluß der pylorischen Region, und somit zur Unterbrechung des weiteren Nahrungseinstroms (s. Abb. 36 A). Die

verschiedenen Konstriktoren, die von den PY-Neuronen gesteuert werden, kontrollieren den weiteren Verlauf der Kontraktionswelle und könnten ferner am Filtriervorgang beteiligt sein (s. auch Selverston, 1974).

Auf Grund dieser sequentiellen Entladungscharakteristik der pylorischen Neurone wird die Hypothese aufgestellt, daß eine Funktion dieses Entladungsmusters ein portionsweiser Einstrom von Cymus in den Pylorus ist. Eine Portion ist dabei bestimmt durch das konstante Intervall zwischen der PD- und LP-Neuronenaktivität. Anschließend wird im Filtersystem des Pylorus verwertbares Material in die Verdauungsdrüsen und nicht verwertbares Material in den Enddarm sortiert. Solch eine Funktion wäre analog dem des Vertebraten Sphinkters, der die portionsweise Abgabe von Nahrungsbrei in den Mitteldarm steuert.

Eine Erhöhung des Cymusangebots an der Pylorusöffnung würde eine erhöhte pylorische Aktivität notwendig machen, die sich in einer verstärkten neuronalen Aktivität ausdrücken müsste. Experimente bei denen Fischextrakt in der Nähe der Pylorusöffnung injiziert worden war, bestätigen dies. Eine gleichzeitige Ableitung vom lvn zeigt eine Beschleunigung des pylorischen Entladungsmusters. Es läßt sich daher annehmen, daß Mechano- und/oder Chemorezeptoren, die im oder am Magen inserieren (z.B. PSR) dadurch erregt werden und ähnlich wie bei der Reflexerregung zum ZNS projizieren, wo es nach einer Umschaltung auf Interneurone schließlich zu einer Aktivierung entsprechender pylorischer Neurone kommt. Da beschleunigte pylorische Rhythmizität auch bei Stimulation am sgn durch eine Erregung aller pylorischer Einheiten auftritt, läßt sich ein ähnlicher Mechanismus für das aktuelle Verhalten annehmen.

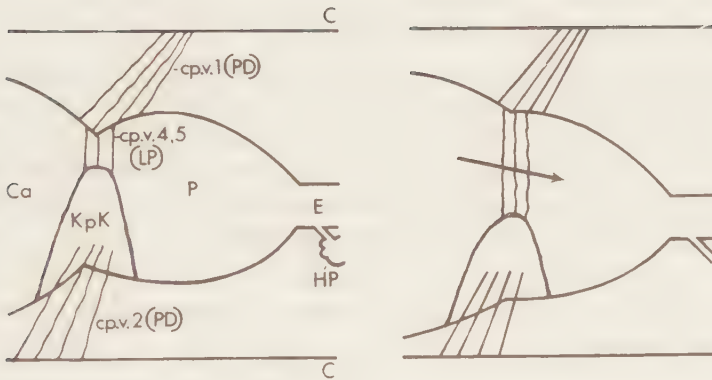


Abb. 36: Schema der kardiopylorikalischen Region. A - Pylorus geschlossen. B - Pylorus offen, Pfeil - Einströmrichtung des Cymus. Ca posteriorer Teil der Cardia P Pylorus; C - Carapax; E - Enddarm; HP - Hepatopankreas; cp.v. 1 u. 2 Kardiopylorikalmuskeln innerviert von den PD-Neuronen; cp.v. 4, 5 Kardiopylorikalmuskeln innerviert vom LP-Neuron. KpK Kardiopylorikalklappe.

Interpretation des Reflexablaufs

Eine erhöhte Aktivität der Schrittmacherneurone bei gleichzeitiger Hemmung der Konstriktorneurone während des Reflexablaufs muß eine ständige Öffnung des Pylorus ergeben (Dando et al., 1974). Dadurch kann aber permanent Kardiainhalt in den Pylorus einströmen.

Spontan treten die Reflexmodifikationen des pylorischen Entladungsmusters vor allem während gastrischer Aktivität auf, d.h. dann, wenn offensichtlich eine verstärkte Verarbeitungsaktivität vorliegt. Eine erhöhte Cymusmenge im Pylorus würde eine erhöhte nachfolgende Verarbeitungstätigkeit bedingen, die irgendwie im Entladungsmuster zum Ausdruck kommen müßte. Nun normalisiert sich das pylorische

Entladungsmuster jedoch nach einer psn Stimulation oder nach einem spontanen gastrischen Zyklus sehr rasch. Entweder hat daher kein vermehrter Cymuseinstrom stattgefunden, was der Interpretation des Reflexentladungsmusters widerspricht (s. oben), oder das Material hat den Pylorus ohne weitere Filtration passiert und wurde sofort dem Enddarm zugeleitet. Die letztere Interpretation scheint mir daher die zutreffendere. Vor allem größeres unverwerthbares Material könnte so schnell den Pylorus passieren.

Zur Computer Simulation

Die Simulationen zeigten Ausgangsmuster, die sehr ähnlich sind den intra- und extrazellulären Ableitungen vom Tierpräparat. Für einige bei der Simulation verwendeten Parameter liegen jedoch bisher keine experimentellen Messungen vor, wie etwa für Kabelparameter oder PIR. Wie Computersimulationen mit und ohne PIR jedoch zeigten, (Balch et al., in Vorbereitung), ist er vermutlich jedoch nicht essentiell für die Entstehung des Entladungsmusters, könnte aber für die Entladungscharakteristik der einzelnen Neurone verantwortlich sein.

Eine wesentliche Einschränkung für eine exakte Computersimulation ist allerdings, daß die zur Verfügung stehenden Zelldaten überlagert sind von bisher unbekannten elektrotonischen Leitungsparametern. Daher ist es eigentlich erstaunlich, daß trotz der in den Meßdaten auftretenden Ungenauigkeiten eine relativ gute Annäherung zwischen Computersimulation und dem experimentell abgeleiteten pylorischen Ausgangsmuster zu erhalten war. Entweder ist daher das pylorische Entladungsmuster mit erheblichen Sicherheitsfaktoren ausgestattet, die eine regelmäßige pylorische Entladung selbst dann noch erlauben, wenn die einzelnen Zelldaten und synaptischen Parameter stark variieren, oder, der elektrotonische Einfluß relativiert nur die Meßdaten und spielt aus diesem Grunde für die Simulation keine große Rolle.

Relevanz der Untersuchungen an niederen Tieren

Bei Untersuchungen an niederen Tieren stellt sich immer wieder die Frage, ob die Prinzipien die für ihre Organisation und Funktion maßgebend sind, sich als so allgemein erweisen, daß sie auch für andere neuronale Systeme von Bedeutung sein können. Für eine solche Anschauung spricht eine Vielzahl grundlegender Erkenntnisse über zelluläre Mechanismen, die an Invertebratenpräparaten erworben wurden (wie etwa Konditionierung und Habituation; Kandel und Tauc, 1965, oder die heterosynaptische Bahnung und Hemmung, Tauc, 1965).

Zieht man die Organisation von Nervensystemen in Betracht, möchte man vermuten, daß phylogenetisch so weit auseinanderliegende Gruppen wie Invertebraten und Vertebraten wenig Gemeinsamkeiten haben. Vergleichende Studien zeigen jedoch, daß trotz beträchtlicher Unterschiede in der allgemeinen neuronalen Organisation dieser Gruppen gewisse einfache Grundmuster fast universell sind. So lassen sich eine Anzahl von Ähnlichkeiten in der strukturellen Organisation in den visuellen Systemen der Cephalopoden, Mollusken, höheren Arthropoden und der Vertebraten feststellen (im Detail gibt es natürlich Unterschiede, die funktionell bedingt sind). Ähnliche morphologische Grundmuster liegen auch in den olfaktorischen Systemen der Vertebraten und höheren Arthropoden vor (s. Maynard, 1967).

Heute stimmen die Anschauungen vieler Wissenschaftler darin überein, daß die gefundenen morphologischen Grundstrukturen zentraler Nervensysteme eine funktionelle Einteilung reflektieren. Die Kommunikation zwischen den morphologisch-funktionellen Einheiten (z.B. Nuklei, Cortices und ihren Unterteilungen) geschieht über Neurone mit entsprechend langen Zellfortsätzen. Die meisten Neurone im Ver-

tebraten ZNS haben jedoch nur relativ kurze Fortsätze, mit denen sie nur mit Neuronen in ihrer unmittelbaren Umgebung in Kontakt treten können. Solche Neurone mit ausschließlich lokalen Verbindungen scheinen in der phylogenetischen Reihe zuzunehmen, mit einem Maximum im menschlichen Gehirn.

Die meisten Untersuchungen über die anatomische und funktionelle Organisation des Vertebraten ZNS beschäftigen sich mit den langen Projektionen und Faserverbindungen zwischen verschiedenen entfernten Strukturen. Weniger als 10 % aller wissenschaftlichen Publikationen behandeln lokale neuronale Verschaltungseinheiten (Rakic, 1975).

Eine Reihe von Dysfunktionen zentraler Nervensysteme wird vermutlich durch die Pathologie lokaler Neuronenkomplexe hervorgerufen (Purpura, 1975). Ein besseres Verständnis der anatomischen und funktionellen Organisation lokaler Integrationseinheiten und deren Steuerung könnte daher helfen, Ansatzpunkte zur Beseitigung solcher funktioneller Störungen zu finden.

Tabelle 2 : Neuronenparameter

Entla- dungstyp	Durchmes- ser (μ)	Membranruhe- potential (mV)	Aktionspoten- tialamplitu- de (mV)	R Membran- wider- stand (M Ω)	Membran- zeitkonstan- te (msec)
s-PD	50-60	50,2 $\pm$ 5,0	10,4 $\pm$ 1,2	-	-
m-PD	60-100	50,6 $\pm$ 7,4	16,8 $\pm$ 5,8	9,0 $\pm$ 2,9	53,3 $\pm$ 18,8
LP	70-100	51,6 $\pm$ 7,6	7,6 $\pm$ 2,6	9,5 $\pm$ 2,5 _r	46,6 $\pm$ 20,8
PY	30-60	40-65	4-40	4,2-13,3	30-68

Tabelle 3 : Synaptische Parameter

synaptische Interaktion	IPSP-Ampli- tude (mV)	IPSP-Anstieg ($t_{1/2}$) (msec)	IPSP-Abfall ($t_{1/2}$) (msec)
m-PD-●LP	1-2	1,9-4	47-108
m-PD-●PY	1,0-2,5	5-18	87-185
s-PD-●PY	1-1,5	7-13	60-85
LP-●PD	1	3-5	50-95
LP-●PY	0,5-1,5	4,5-13	75-180
PY-●LP	1,5-2,5	6-9	55-90

+) : MRP für nicht-spontan-aktive PD-Neurone

● : inhibitorische Synapse

Tabelle 4 : Neuronenparameter für Computersimulation

	Membranruhe- potential (mV)	Entladungs- schwelle (mV)	Membranzeit- konstante (msec)	Spikere- fraktär- zeit (msec)	Spikeampli- tude (mV)
LP	- 54	- 53	36	3	10
PY1	- 52	- 51	30	3	7,5
PY2	- 45	- 44	43	3	20

Tabelle 5 : Synaptische Parameter für Computersimulation

	IPSP-Am- plitude (mV)	IPSP-Antifa- cilisierung	IPSP-An- stieg ($t_{1/2}$) (msec)	IPSP-Abfall $t_{1/2}$ (msec)
PD-●LP	- 1.5	0.7	4.0	75
PD-●PY1	- 2.1	0.7	15.8	180
PD-●PY2	-2.0	0.6	13.0	95
LP-●PY1	- 0.5	0.6	4.8	180
LP-●PY2	- 0.6	0.6	13.0	100
PY1-●LP	- 1.6	0.58	10.0	65
PY2-●LP	-1.5	0.6	1.1	62

ABKÜRZUNGEN

AB	= anteriorer Burster
CG	= Kommissur Ganglion
dvn	= dorsaler ventrikular Nerv
EPSP	= exzitatorisches postsynaptisches Potential
ivn	= inferiorer ventrikular Nerv
IC	= inferiores kardia Neuron
ion	= inferiorer Oesophagusnerv
IPSP	= inhibitorisches postsynaptisches Potential
LP	= laterales pylorisches Neuron
I-V	= Strom-Spannung
lvn	= lateraler ventrikular Nerv
m-PD	= mittelgroßes (medium-sized)-pylorisches-dilator-Neuron
MRP	= Membranruhepotential
mvn	= medianer ventrikularer Nerv
OeG	= Oesophagus-Ganglion
PIR	= post-inhibitorischer rebound
psn	= posteriorer Magennerv
PSR	= posteriorer Magenrezeptor
PY	= pylorisches Neuron
R_N	= Membranwiderstand
sgn	= stomatogastrischer Nerv
SOG	= superiores Oesophagusganglion
son	= superiorer Oesophagusnerv
s-PD	= kleines (small)-pylorisches-dilator-Neuron
StG	= stomatogastrisches Ganglion
svn	= kleiner ventrikularer Nerv
VD	= ventrikuläres dilator Neuron
τ_m	= Membranzeitkonstante

LITERATURVERZEICHNIS

- Alving, B.O. : Spontaneous activity in isolated somata of Aplysia pacemaker neurons. Gen. Physiol., 51, 29 - 45 (1968).
- Alexandrowicz, J.S. : The innervation of the heart of the Crustacea. I. Decapoda. Q.J.L. microsc. Sci. 75, 182 - 250 (1932).
- Atwood, H.L., Wiersma, C.A.G. : Command interneurons in the crayfish central nervous system. J. exp. Biol. 46, 249 - 261 (1967).
- Arvanitaki, A., Chalazonitis, N. : Electrical properties and temporal organization in oscillatory neurons (Aplysia): In: Symposium on Neurobiology of Invertebrates, 169 - 199 (1967).
- Auerbach, A.A., Bennett, M.V.L.: A rectifying electrotonic synapse in the central nervous system of a vertebrate. J. Gen. Physiol. 53, 211 - 237 (1969).
- Balch, P.R., Cunliffe, G., Hermann, A. : Computer simulation of the pyloric cycle in the crab, Cancer pagurus. In Vorbereitung.
- Baker, R., Llinás, R. : Electrotonic coupling between neurones in the cat mesencephalic nucleus. J. Physiol. 212, 45 - 63 (1971).
- Barker, J.L., Gainer, H. : Studies on bursting pacemaker potential activity in Molluscan neurones. Brain Res., 84, 461 - 513 (1975).
- Barrett, J.N. : Determination of neuronal membran properties using intracellular staining techniques. In Kater, S. and Nicholson C., Intracellular staining in neurobiology. Springer-Verlag, N.Y. (1973).
- Bentley, P.R.: Intracellular activity in cricket neurones during the generation of behaviour patterns. Z. vergl. Physiol. 62, 267-283 (1969).
- Bogomoletz, V.I.: Electrophysiological properties of neurons and neuronal organization of crayfish stomatogastric ganglion. Neurophysiologia, 2, 307 - 313 (1970).

Bowerman, R.F., Larimer, J.L.: Command Neurons in Crustaceans. Comp. Biochem. Physiol., 54 : 1-5 (1976)

Bullock, T.H., Horridge, G.A.: Structure and function in the nervous systems of Invertebrates, Vol. I. W.H. Freeman and Co. San Francisco, Cal. pp. 607 (1965).

Burkhardt, D. : Wörterbuch der Neurophysiologie, Fischer-Verlag (1971) s. 21.

Dagan, D., Vernon, L.H., Hoyle, G. : Neuromimes : Self-exciting alternate firing pattern models. Science, 188, 1035 - 1036 (1975).

Dando, M. R., Laverack, M.S. : The anatomy and physiology of the posterior stomach nerve (psn) in some decapod crustacea. Proc. Roy. Soc. 171, 465 - 482 (1969).

Dando, M.R., Selverston, A.J. : Command fibres from the supra-oesophageal to the stomatogastric ganglion in *Panulirus argus*. J. comp. Physiol. 78, 138 - 175 (1972).

Dando, M.R., Chanussot, B., Nagy, F. : Activation of command fibres to the stomatogastric ganglion by input from a gastric mill proprioceptor in the crab, *Cancer pagurus*. Marine Behav. Physiol. 2, 197 - 228 (1974).

Delong, M. : Central patterning of movement. Neurosci. Res. Prog. Bull. 9, 10 - 30 (1971).

Dudel, J. :, Trautwein, W. : Der Mechanismus der automatischen rhythmischen Impulsbildung der Herzmuskelfaser. Pflüg. Arch., 267, 553 - 565 (1958).

Eccles, J.C. : The Physiology of Synapses. Springer-Verlag, 1964.

Eckert, R.O. : Electrical interaction of paired ganglion cells in the leech. J. Gen. Physiol. 46, 573 - 587 (1963).

Eckert, R., Lux, H.D. : A non-inactivating inward current recorded during small depolarizing voltage steps in snail pacemakers neurons. Brain Res. 83, 486 - 489 (1975).

- Eckert, R.O., Lux, H.D. : A voltage-sensitive persistent calcium conductance in neuronal somata of *Helix*. *J. Physiol.* 254, 129 - 151 (1976).
- Frank, K., Fuortes, M.G.F. : Excitation and conduction. *Ann. Rev. Physiol.* 23, 357 (1961).
- Furshpan, E.J., Potter, D.D.: Transmission at the giant motor-synapses of the crayfish. *J. Physiol.* 145, 289-325 (1959).
- Govind, C.K., Atwood, H.L., Maynard, D.M. : Innervation and neuromuscular physiology of intrinsic foregut muscles in the blue crab and spring lobster. *J. comp. Physiol.* 96, 185 - 204 (1975).
- Hagiwara, S. : Nervous activities of the heart in Crustacea. *Ergeb. Biol.*, 24, 287 - 311 (1961).
- Harmon, L.D., Lewis, E.R. : Neural Modelling. *Physiol. Rev.*, 46, 513 - 591 (1966).
- Hartline, D.K., Maynard, D.M. : Motor patterns in the stomatogastric ganglion of the lobster, *Panulirus argus*. *J. Exp. Biol.* 62, 405 - 420 (1975).
- Henneman, E. : Relation between size of neurons and their susceptibility to discharge. *Science*, 126, 1345 - 1347 (1957).
- Hermann, A., Rieske, E., Kreutzberg, G.W., Lux, H.D.: Transjunctional flux of radioactive precursors across electrotonic synapses between lateral giant axons of the crayfish. *Brain Res.* 95, 125 - 131 (1975).
- Hermann, A., Rieske, E. : Transneuronal passage of protein precursors and inhibition of transfer after decoupling of electrotonic synapses *Pflüg. Arch.*, 359, 171 (1975).
- Hermann, A., Dando, M.R.: Mechanism of command fibre operation onto the bursting pacemaker neurones in the stomatogastric ganglion of the crab, *Cancer pagurus*. *J. comp. Physiol.* (in press).
- Hermann, A., Cunliffe, G.,: Activity of pyloric motoneurones in the stomatogastric ganglion of the crab, *Cancer pagurus* (in Vorbereitung).

- Horridge, G. A.: Interneurons, their origin, action, specificity, growth and plasticity. Freeman, San Francisco, (1968)
- Hoyle, G., Burrows, M.: Neural mechanisms underlying behavior in the locust *Schistocerca Gregoria*. J. of Neurobiol. 4, 3-67 (1973)
- Huber, F.: Central nervous control of sound production in crickets and some speculations on its evolution. *Evolution*, 16, 429-442 (1962)
- Huber, F.: Central control of movements and behavior of invertebrates. In: *Invertebrate nervous systems*. ed., Wiersma C.A.G. Chicago Uni. Press, pp. 333-351 (1967)
- Jack, J.J.B., Redman, S.I.: An electrical description of the motoneurone and its application to the analysis of synaptic potentials. J. Physiol. 215, 321-352 (1971)
- Junge, D., Stephens, C.L.: Cyclic Variation of Potassium Conductance in a Burst generating neurone in *Aplysia*. J. Physiol. 235, 155-181 (1973)
- Kandel, E.R., Tauc, L.: Mechanisms of heterosynaptic facilitation in the giant cell of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. J. Physiol. 181, 1-47 (1965)
- Kandel, E.R., Tauc, L.: Anomalous rectification in the metacerebral giant cells and its consequences for synaptic transmission. J. Physiol. 183, 287 (1966)
- Kandel, E.R., Kupferman, I.: Invertebrate ganglia. *Ann. Rev. Physiol.* 32, 193-258 (1970)
- Kendig, J.J.: Motor neurone coupling in locust flight. J. exp. Biol. 48, 389-404 (1968)
- Kennedy, D., Selverston, A.J., Remler, M.P.: Analysis of restricted neural networks. *Science*. 164, 1488-1496 (1969)
- Korn, H., Bennett, M.V.L.: Vestibular nystagmus and Teleost oculomotor neurons: Function of electrotonic coupling and dendritic impulse initiation. J. Neurophysiol. 28, 430-451 (1975)
- Korn, H., Sotelo, c., Crepel, F.: Electrotonic coupling between neurons in the rat lateral vestibular nucleus. *Exptl. Brain Res.* 16, 255-275 (1973)

- Krasts, I.V., Veprintser, B.N.: The giant neurons of Tritonia: Its electric properties and the ionic dependence of the action potential. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41A, 289-296 (1972)
- Larimer, J.L., Kennedy, D.: Visceral afferent signals in the crayfish stomatogastric ganglion. *J. exp. Biol.* 44, 345-354 (1966)
- Llinás, R., Baker, R., Sotelo, C.: Electrotonic coupling between neurons in cat inferior olive. *J. Neurophysiol.*, 37, 560-571 (1974)
- Lux, H.D., Schubert, P.: Postsynaptic inhibition: Intracellular effects of various ions in spinal motoneurons. *Exp. Brain Res.* 11, 431-447 (1970)
- Lux, H.D., Schubert, P., Kreutzberg, G.W.: Direct matching of morphological and electrophysiological data in cat spinal motoneurons. In: *Excitatory Synaptic Mechanisms*, ed. P. Andersen and J.K.S. Jansen, pp. 189-198 Universitets forlaget, Oslo (1970)
- Lux, H.D.: Ammonium and chloride extrusion: Hyperpolarizing synaptic inhibition in spinal motoneurons. *Science*, 173, 555-557 (1971)
- Lux, H.D., Eckert, R.: Inferred slow inward current in snail neurones. *Nature, Lond.* 250, 574-576 (1974)
- Lux, H.D., Schubert, P.: Some Aspects of the electroanatomy of dendrites. *Advances in Neurology*, 12, 29-44 (1975)
- Lux, H.D., Hever, C.B.: Fast K^+ activity determinations during outward currents of the neuronal membrane of *Helix pomatia*. *Bioelectrochem. Bioenergetics*, 3, 169-182, 1976.
- Marder, E.: Acetylcholine as an excitatory neuromuscular transmitter in the stomatogastric system of the lobster. *Nature*, 251, 730-731 (1974)
- Maynard, D.M.: Integration in crustacean ganglia. In: *Nervous and hormonal mechanisms of integration*. *Symp. Soc. exp. Biol.*, 20, 111-149 (1965)
- Maynard, D.M., Burke, W.: Electrotonic junctions and negative feedback in the stomatogastric ganglion of the mud crab, *Scylla serrata*. *Am. Zool.* 6, 95 (1966)
- Maynard, D.M.: Neural coordination in a simple ganglion. *Science*. 158, 531-532 (1967)

Maynard, D.M.: Organization of central ganglia. In: Invertebrate Nervous Systems. ed. Wiersma, C.A.G., 231-255 (1967)

Maynard, D.M.: Diskussion; in "The Interneuron" p. 58-70, ed. M.A.B. Brazier. U. of Calif. Press. (1969)

Maynard, D.M., Atwood, H.A.: Divergent post-synaptic effects produced by single motor neurons of the lobster stomatogastric ganglion. Am. Zool., 9, 1107 (1969)

Maynard, D.M.: Simpler networks. Ann. New York Acad. Sci., 193, 59-72 (1972)

Maynard, D.M., Dando, M.R.: The structure of the stomatogastric neuromuscular system in Callinectes sapidus, Homarus americanus and Panulirus argus. Phil. Trans. B. 268, 161-220 (1974)

Maynard, D.M., Selverston, A.I.: Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster IV. The pyloric system. J. comp. Physiol., 100, 161-182 (1975)

Maynard, D.M., Walton, K.D.: Effects of maintained depolarization of presynaptic neurons on inhibitory transmission in lobster neuropil. J. comp. Physiol., 97, 215-243 (1975)

Maynard, E.A.: Electron microscopy of stomatogastric ganglion in the lobster Homarus americanus. Tissue a. Cell., 3, 137-160 (1971)

Meech, R.W., Standen, N.B.: Potassium activation in Helix aspera under voltage clamp: a component mediated by calcium influx. J. Physiol. 249, 211-239 (1975)

Mendelson, M.: Oscillator neurons in crustacean ganglia. Science, 171, 1170-1173 (1970)

Meyer, H.: Untersuchungen zum Mechanismus der postsynaptischen Hemmung am abdominalen Streckrezeptor von Astacus fluviatilis. Dissertation (1972)

Meyer, H., Lux, H.D.: Action of Ammonium on a chloride pump. Pflüg. Arch. 350, 185-195 (1974)

- Mirolli, M., Gorman, A.L.F.: The extracellular space of a simple molluscan nervous system and its permeability to potassium. *J. exp. Biol.* 58, 423-435 (1973)
- Morris, J., Maynard, D.M.: Recordings from the stomatogastric nervous system in intact lobsters. *Comp. Biochem. Physiol.* 33, 969-974 (1970)
- Mulloney, B.C.: Organization of the flight motor neurons of Diptera. *J. Neurophysiol.* 33, 86-95 (1969a)
- Mulloney, B.C.: Organization of flight motoneurons of Diptera. *J. Neurophysiol.* 33, 86-95 (1970)
- Mulloney, B., Selverston, A.I.: Antidromic action potentials fail to demonstrate known interactions between neurons. *Science*, 177, 69-72 (1972)
- Mulloney, B., Selverston, A.I.: Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster I. Neurons driving the lateral teeth. *J. comp. Physiol.* 91, 1-32 (1974a)
- Mulloney, B., Selverston, A.I.: Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster III. Coordination of the two subsets of the gastric system. *J. comp. Physiol.* 91, 53-78 (1974b)
- Nagy, F., Dando, M.R.: Modification du programme moteur du ganglion stomatogastrique par stimulation d'un nerf sensoriel stomacal chez le Crabe, *Cancer pagurus*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 276, 599-602 (1973)
- Neher, E.: *Elektronische Meßtechnik in der Physiologie*, Springer-Verlag, (1974)
- Orlov, J.: Die Innervation des Darmes des Flußkrebsses. *Z. mikrosk. anat. Forsch.* 4, 101-148 (1926a)
- Orlov, J.: Systeme nerveux intestinal de l'écrevisse. *Bull. Inst. rech. biol. Perm. (Molotor)*, 5, 1-32 (1926b)
- Orlov, J.: Das Magenganglion des Flußkrebsses. Ein Beitrag zur vergleichenden Histologie des sympathischen Nervensystems. *Z. mikrosk. anat. Forsch.* 8, 73-96 (1927)
- Orlov, J.: Über den histologischen Bau der Ganglien des Mundmagennervensystems der Crustaceen. *Z. mikr. anat. Forsch.* 3, 493-541 (1929)

- Osborn, N.N., Dando, M.R.: Monoamines in the stomatogastric ganglion of the lobster *Homarus vulgaris*. *Comp. Biochem. Physiol.* 32, 327-331 (1970)
- Pearson, K.F.: Central programming and reflex control of walking in the cockroach. *J. exp. Biol.* 56, 173-193 (1972)
- Pantin, C.F.A.: In: Notes on microscopical technique for zoologists. Cambridge University Press. (1961)
- Perkel, D.M., Mulloney, B.: Motor pattern production in reciprocally inhibitory neurons exhibiting postinhibitory rebound. *Science*, 185, 181-183 (1974)
- Purpura, D.P.: Normal and aberrant neuronal development in the cerebral cortex of human fetus and young infant. In: Brain Mechanisms in Mental Retardation (UCLA Forum in Medical Sci., No. 18) Buchwald, N.A. and Brazier, M.A.B., eds. New York: Acad. Press pp. 141-167 (1975)
- Rakic, P.: Local circuit neurons. *Neurosci. Res. Prog. Bull.*, 13, 291-446 (1975)
- Rall, W.: Membrane potential transients and membrane time constant of motoneurons. *Exp. Neural.*, 2, 503-532 (1960)
- Rall, W., Burke, R.E., Smith, T.G., Nelson, P.G., Frank, K.: Dendritic location of synapses and possible mechanisms for the monosynaptic EPSP in motoneurons. *J. Neurophysiol.* 30, 1169-1193 (1967)
- Rall, W.: Cable properties of dendrites and effects of synaptic location. pp. 175-187 in Andersen, P. and Jansen, J.K.S.: Excitatory Synaptic Mechanisms. Universitets forlaget, Oslo, (1970)
- Reiss, R.F.: Neural Theory and Modeling. Standord Univ. Press (1964)
- Revel, J.P., Karnovsky, M.J.: Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. *J. Cell. Biol.* 33, C7 (1967)
- Schaefer, N.: The functional morphology of the foregut of three species of decapod Crustacea. *Zool. Africa* 5, 309-326 (1970)

- Selverston, A.I., Remler, M.P.: Neural geometry and activation of crayfish fast flexor motoneurons. *J. Neurophysiol.* 35, 797-814 (1972)
- Selverston, A.I.: The use of intracellular dye injections in the study of small neural networks. In: Kater and Nicholson, Intracellular staining techniques in neuro-biology. Springer-Verlag (1973)
- Selverston, A.I.: Structural and functional basis of motor pattern generation in the stomatogastric ganglion of the lobster. *Amer. Zool.* 14, 957-972 (1974)
- Selverston, A.I., Mulloney, B.: Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster II, Neurons driving the medial tooth. *J. comp. Physiol.* 91, 33-51 (1974)
- Selverston, A.I., Mulloney, B.: Synaptic and structural Analysis of a small neural system. The Neurosciences, 3rd study programme ed. F.O. Schmitt and F.G. Warden. p. 389-395 (1974)
- Spira, M.E., Bennett, M.V.L.: Synaptic control of electrotonic coupling between neurones. *Brain Res.* 37, 294-300 (1972)
- Spirito, C.P.: The Organization of the crayfish oesophageal nervous system. *J. comp. Physiol.* 102, 237-249 (1975)
- Thomas, R.C.: Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells. *Physiol. reviews*, 52, 563-595 (1972)
- Terzuolo, C.A., Washizu, I.: Relation between stimulus strength, generator potential and impulse frequency in stretch receptor of Crustacea. *J. Neurophysiol.* 25, 56-66 (1962)
- Usherwood, P.N.R., Newth, D.R.: "Simple" nervous systems. E. Arnold Ltd. (1975)
- Wiersma, C.A.G.: The neuron soma. Neurons of arthropods. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 17, 155-163 (1952)
- Wiersma, C.A.G., Ikeda, K.: Interneurones commanding swimmeret movements in the crayfish *Procambarus clarkii* (Girard). *Comp. Biochem. Physiol.*, 12, 509-525 (1964)

- Wilkens, J.L., Wilkens, L.A., McMahon, B.R.: Central control of cardiac and scaphognathite pacemakers in the crab, *Cancer magister*. *J. comp. Physiol.*, 90, 89-104 (1974)
- Willows, A.O.D., Corsett, D.A., Hoyle, G.: The neuronal basis of behavior in *Tritonia*. *J. of Neurobiol.* 4, 207-285 (1973)
- Wilson, D.M.: The central nervous control of flight in a locust. *J. Exp. Biol.* 38, 471-490 (1961)
- Wilson, D.M.: Central nervous mechanisms for the generation of rhythmic behaviour in arthropods. *Symp. Soc., Exp. Biol.* 20, 199-223 (1966)
- Wilson, D.M.: Neural operations in arthropod ganglia. *The Neurosciences, A second study program*, p. 397-409 (1970)
- Wyman, R.J.: Multi-stable firing patterns among several neurons. *J. Neurophysiol.* 29, 807-833 (1966)
- Zucker, R.S.: Crayfish escape behaviour and central synapses I, II, III. *J. Neurophysiol.* 35, 599-651 (1972)

LEBENS LAUF

Am 20. Oktober 1945 wurde ich als Sohn des Feinmechanikermeisters Anton Hermann und seiner Frau Anna, geb. Oberhauser, in München geboren. Von 1951 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in München und wechselte dann in das Erasmus-Grasser-Gymnasium über, an dem ich 1966 mit dem Abitur abschloß. Anschließend wurde ich zum Militärdienst eingezogen. Im Wintersemester 1967/68 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München und legte im Wintersemester 1971/72 das Staatsexamen in den Fächern Chemie und Biologie ab. Danach begann ich im Sommer 1972 meine Doktorarbeit am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abteilung Neurophysiologie bei Herrn Priv. Doz. Dr. H.D. Lux. Während dieser Zeit war ich als Stipendiat des European Training Program in Brain and Behaviour Research zu einem dreimonatigem wissenschaftlichen Aufenthalt an der Universität St. Andrews (Schottland).

Im Dezember 1973 heiratete ich die Auslandskorrespondentin Marianna Janko.

Seit März 1976 bin ich an der Boston University, School of Medicine, Dept. Physiology bei Professor A.L.F. Gorman angestellt.

